

Die Sehpigmentsysteme  
im Superpositionsauge der  
Mehlmotte  
*Ephestia kuehniella* Z.

Reflexionsspektroskopische Untersuchungen  
zur Photointerkonversion und Dunkelregeneration  
von Sehfarbstoffstadien

vorgelegt von  
Jutta Wojciechowski  
aus Erlangen

*Diss. Erlangen*  
*1983*



Die Sehpigmentsysteme  
im Superpositionsauge der  
Mehlmotte  
*Ephestia kuehniella* Z.

Reflexionsspektroskopische Untersuchungen  
zur Photointerkonversion und Dunkelregeneration  
von Sehfärbstoffstadien

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen - Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von  
**Jutta Wojciechowski**  
aus Erlangen

Als Dissertation genehmigt von den Naturwissenschaftlichen  
Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung:

26.9.1983

Vorsitzender der Promotionskommission:

Prof. Dr. K. Jakobs

Erstberichterstatte:

Prof. Dr. G. Seitz

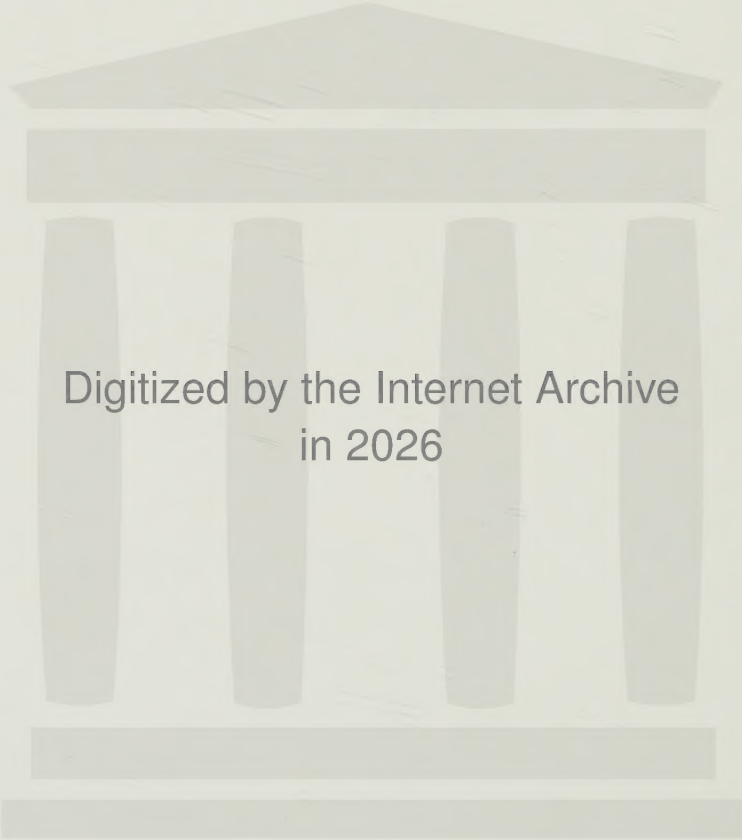
Zweitberichterstatte:

Prof. Dr. O.v. Helversen

|     |                                 |    |
|-----|---------------------------------|----|
| 1.  | Einleitung                      | 1  |
| 2.  | Die Bedeutung der Eltern        | 2  |
| 3.  | Die Rolle der Eltern            | 3  |
| 4.  | Die Aufgaben der Eltern         | 4  |
| 5.  | Die Verantwortung der Eltern    | 5  |
| 6.  | Die Beziehung der Eltern        | 6  |
| 7.  | Die Erziehung der Eltern        | 7  |
| 8.  | Die Förderung der Eltern        | 8  |
| 9.  | Die Unterstützung der Eltern    | 9  |
| 10. | Die Beratung der Eltern         | 10 |
| 11. | Die Hilfe der Eltern            | 11 |
| 12. | Die Zusammenarbeit der Eltern   | 12 |
| 13. | Die Partizipation der Eltern    | 13 |
| 14. | Die Empowerment der Eltern      | 14 |
| 15. | Die Selbstbestimmung der Eltern | 15 |
| 16. | Die Würde der Eltern            | 16 |
| 17. | Die Privatsphäre der Eltern     | 17 |
| 18. | Die Integrität der Eltern       | 18 |
| 19. | Die Identität der Eltern        | 19 |
| 20. | Die Kontinuität der Eltern      | 20 |
| 21. | Die Kohärenz der Eltern         | 21 |
| 22. | Die Sinnhaftigkeit der Eltern   | 22 |
| 23. | Die Zweckmäßigkeit der Eltern   | 23 |
| 24. | Die Angemessenheit der Eltern   | 24 |
| 25. | Die Billigkeit der Eltern       | 25 |
| 26. | Die Gerechtigkeit der Eltern    | 26 |
| 27. | Die Gleichheit der Eltern       | 27 |
| 28. | Die Freiheit der Eltern         | 28 |
| 29. | Die Sicherheit der Eltern       | 29 |
| 30. | Die Gesundheit der Eltern       | 30 |
| 31. | Die Glückseligkeit der Eltern   | 31 |
| 32. | Die Vollständigkeit der Eltern  | 32 |
| 33. | Die Ganzheitlichkeit der Eltern | 33 |
| 34. | Die Einigkeit der Eltern        | 34 |
| 35. | Die Harmonie der Eltern         | 35 |
| 36. | Die Übereinstimmung der Eltern  | 36 |
| 37. | Die Übereinkunft der Eltern     | 37 |
| 38. | Die Übereinstimmung der Eltern  | 38 |
| 39. | Die Übereinstimmung der Eltern  | 39 |
| 40. | Die Übereinstimmung der Eltern  | 40 |

meinen Eltern

<



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41546202\\_0025](https://archive.org/details/IA41546202_0025)

## Inhalt

|        |                                                                                                          |    |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.     | Zusammenfassung                                                                                          | 1  |
| 2.     | Einleitung                                                                                               | 4  |
| 3.     | Material und Methoden                                                                                    | 10 |
| 3.1.   | Tiermaterial                                                                                             | 10 |
| 3.2.   | Präparation                                                                                              | 12 |
| 3.3.   | Reflexionsspektroskopie                                                                                  | 14 |
| 3.4.   | Elektrophysiologie                                                                                       | 17 |
| 3.5.   | Körpertemperaturmessung                                                                                  | 17 |
| 3.6.   | Datenverarbeitung                                                                                        | 18 |
| 3.7.   | Symbole und Definitionen                                                                                 | 19 |
| 4.     | Ergebnisse: Pigmentsysteme                                                                               | 21 |
| 4.1.   | Differenzspektren                                                                                        | 21 |
| 4.2.   | Isosbestischer Punkt in<br>Abhängigkeit von $\lambda_A$                                                  | 33 |
| 4.3.   | Extinktionsänderungen als Funktion<br>der Testwellenlänge ( $\lambda_A = \text{const.}$ )                | 35 |
| 4.4.   | Extinktionsänderung in Abhängigkeit<br>von der Adaptationswellenlänge<br>( $\lambda_T = \text{const.}$ ) | 40 |
| 5.     | Diskussion der Pigmentsysteme                                                                            | 43 |
| 6.     | Ergebnisse: Dunkelregeneration                                                                           | 59 |
| 6.1.   | Dunkelregeneration im Sehpigmentsystem I                                                                 | 59 |
| 6.1.1. | Zunahme der Rhodopsinfraktion in<br>Abhängigkeit von der Dunkelzeit                                      | 59 |
| 6.1.2. | Zunahme der Rhodopsinfraktion in<br>Abhängigkeit von der Regenera-<br>tionstemperatur                    | 63 |
| 6.1.3. | Rhodopsinfraktionszunahme in Abhängig-<br>keit von der Metarhodopsinfraktion                             | 66 |
| 6.2.   | ERG- Messungen zur Dunkelregeneration                                                                    | 70 |
| 6.3.   | Differenzspektren zur Dunkelregeneration                                                                 | 76 |
| 6.4.   | Dunkelregeneration im Pigmentsystem II                                                                   | 83 |

|      |                                         |     |
|------|-----------------------------------------|-----|
| 7.   | Diskussion zur Dunkelregeneration       | 94  |
| 8.   | Anhang                                  | 107 |
| 8.1. | Formelanhang                            | 107 |
| 8.2. | Struktogramme zu den Computerprogrammen | 111 |
| 9.   | Literatur                               | 129 |
| 10.  | Danksagungen                            | 145 |
| 11.  | Lebenslauf                              | 147 |

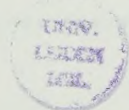
## 1. Zusammenfassung

Im Komplexauge von Epehestia kuehniella Z., Mutante wa, sind zwei Sehpigmentsysteme enthalten, sowie ein drittes konvertibles Pigmentsystem (Abb. 2, 3, 5). Durch Differenzspektren wird der Farbstoff des Grünrezeptors als ein Pigmentsystem bestätigt, das aus P530 und M490 gebildet wird, mit dem Amplitudenverhältnis der maximalen Absorptionskoeffizienten von 1,8 (Abb. 1 und 2).

Im Blaurezeptor ist ein Rhodopsin P450 und ein Metarhodopsin M490 enthalten; die Maxima der Absorptionskoeffizienten liegen im Verhältnis 1,3 vor (Abb. 3, 4, 6, 7).

Das dritte Pigmentsystem weist einen Ausgangsfarbstoff auf, der bei 430 nm maximal absorbiert und in das Photoprodukt mit dem Absorptionsmaximum bei 380 nm überführt werden kann. Die maximalen Absorptionskoeffizienten verhalten sich wie 1,0 für X430 zu 0,2 für Y380 (Abb. 4 - 7).

Bestätigt wurden diese Ergebnisse durch Extinktionsänderungsmessungen. Außerdem ergaben sich für die Verhältnisse der Isomerisationsquantenausbeuten  $\gamma_M / \gamma_P$  des Pigmentsystems SI der Wert 0,9 und des Pigmentsystems SII der Wert 1,1. Für das Pigment-  
system SIII beträgt der Quotient 1,0 (Abb. 12 - 14, 18).



Das Sehpigment des Blaurezeptors zeigt eine von der Augenregion abhängige Mengenverteilung. Die höchste Konzentration fand sich dabei im dorso-cranialen Augenbereich, wo sie etwa 90% der von SI entspricht. Nur geringe Konzentrationen von SII liegen im ventro - caudalen Quadranten vor, mit Verhältnissen gegenüber SI zwischen 0,05 und 0,35 (Abb. 13 und 14). Das dritte Pigmentsystem liegt in etwa gleicher Menge wie SI vor.

Ephestia kuehniella zeigt Dunkelregeneration des Rhodopsins P530 (Abb. 19).

Der  $Q_{10}$  der Dunkelprozesse beträgt im Bereich von 8°C bis 18°C 1,91. Die Temperaturabhängigkeit zeigt in ihrem Verlauf ein Optimum bei etwa 23°C (Abb. 10).

Für die Nettorhodopsinzunahme ergab sich eine lineare Abhängigkeit von der Metarhodopsinfraktion, zu Beginn der Dunkelphase (Abb. 21 und 22).

ERG - Messungen bestätigen einen Aufbau von Rhodopsin durch eine von der Dauer der Dunkelzeit abhängigen Erhöhung der relativen Empfindlichkeit (Abb. 24 und 25).

Differenzkurven aus Reflexionsspektren nach Dunkelzeit ergaben, daß der Abbau von Metarhodopsin und der Aufbau von Rhodopsin einander entsprechen (Abb. 26).

Die gesamte Pigmentkonzentration (SI - SIII) erfährt

einen gleichmäßigen Verlust über die Lebensdauer der Versuchstiere (Abb. 28).

Über zwei verschiedene Meßmethoden konnte Dunkelregeneration des SII direkt nachgewiesen werden. Der Dunkelprozess folgt der für SI gefundenen Kinetik (Abb. 29 - 34).



## 2. Einleitung

Die Sehpigmente sind bei allen bisher untersuchten Tiergruppen membrangebundene Chromoproteide, deren prosthetische Gruppe, meist 11-cis-Retinal, über eine protonierte Schiff'sche Base an den Rest einer Aminosäure des Trägerproteins Opsin gebunden ist (Zusammenfassung: Goldsmith 1972, Hamdorf 1979).

In den Vertebratenrezeptoren führt die Absorption eines Lichtquants zur "Bleichung" des Sehpigments: das Photoprodukt Metarhodopsin hydrolysiert in Opsin und all-trans-Retinal. Diese Hydrolyse galt nach ihrer Entdeckung (Kühne 1877, Wald und Brown 1951) als Bedingung für die Rezeptorerregung, bis Hubbard und St. George (1958) ein thermostabiles Photoprodukt bei Cephalopoden beschrieben: die Reaktionskette, bei der nur der erste Schritt lichtinduziert ist, bricht bei einem Metarhodopsin ab; der Chromophor bleibt an Opsin gebunden. Gleichgültig in welcher tautomeren Form es vorliegt (als saures oder basisches Metarhodopsin), kann es dann durch Photonenabsorption zu Rhodopsin rekonvertieren.

Kurze Zeit später häuften sich gleichlautende Befunde zur Photoregeneration des Rhodopsin bei verschiedenen Invertebraten mit Photorezeptoren des Rhabdomeren-Typs. Durch dieses photochemische Prinzip der Bereitstellung ausreichender Mengen an Sehpigment schien die Frage nach einer Dunkelregeneration bei

Wirbellosen überflüssig. Tatsächlich kommt diesem Flip - Flop System von Konversion und Reversion eine große physiologische Bedeutung zu. Da Sehpigmente allgemein Breitband - Absorptionsspektren besitzen, und sich die Spektren der beiden thermostabilen Stadien meist weit überlappen, kann ein weiter Frequenz - Bereich der Strahlung für den Sehvorgang genutzt werden. Durch die unterschiedlichen Absorptionskurven wird häufig optimale Anpassung an die Lichtverhältnisse des artspezifischen Biotops ermöglicht. Die spektrale Zusammensetzung des Lichtes, die sich tagesperiodisch ändert, bewirkt oft ein photochemisches Gleichgewicht der interkonvertiblen Stadien zugunsten einer hohen Rhodopsinfraktion.

Obgleich dieses so perfekt anmutende Prinzip zu stark generalisierenden Schlußfolgerungen verleitet hatte, finden sich doch zahlreiche Hinweise, daß zumindest einzelne Arten über einen Mechanismus verfügen, selektiv den Rhodopsingehalt ihrer Photorezeptoren ohne direkten Einfluß von Strahlung zu erhöhen.

Bereits 1969 wies Schwemer bei Eledone moschata (Cephalopoda) neben der schnellen Photoregeneration eine um vieles langsamere Dunkelregeneration von Rhodopsin nach (Halbwertszeit ca. 10 min). Seitdem konnte dieser Befund an zahlreichen anderen Vertretern dieser Tiergruppe bestätigt werden.

Im Gegensatz dazu wurden Indizien auf Dunkelregene-

ration bei Insekten oft nicht weitergehend bearbeitet. In diesem Zusammenhang sei die Arbeit von Stavenga (1975) genannt, die als klassischer Hinweis auf Dunkelregeneration bei Aglais urtica (Lepidoptera) zwar oft zitiert wird; den vielversprechenden, doch vagen Ergebnissen blieb die in Aussicht gestellte Bestätigung jedoch bisher versagt.

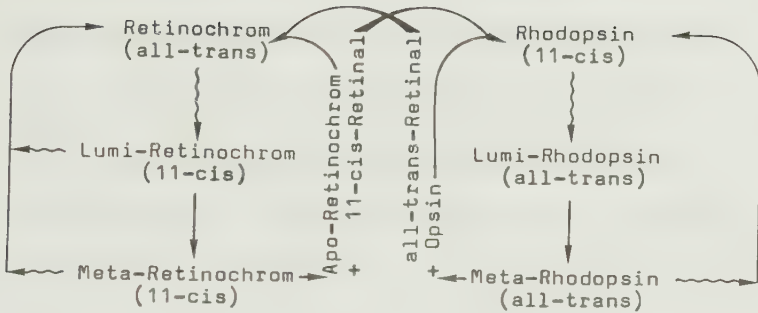
Bei Vertebraten stand schon von Beginn der Aufklärung der Sehpigment - Photochemie fest, daß das von Opsin abgetrennte all-trans-Retinal durch 11-cis-Retinal ersetzt werden muß. Man vermutete, daß eine Isomerase die Reisoimerisation im Dunklen katalysiere. Das Enzym konnte aber bisher nicht eindeutig nachgewiesen werden (Hubbard 1956, Plante und Rabinovitch 1972).

Der allgemein als 'Dunkelregeneration' bezeichnete Prozess ist grundsätzlich über verschiedene Wege denkbar; es muß außer der enzymkatalysierten Reisoimerisation zusätzlich die Biosynthese aus Protein und chromophorer Gruppe wie auch der Austausch der prosthetischen Gruppen zwischen Metarhodopsin (all-trans-Retinal) und Retinochrom (11-cis-Retinal) (Zusammenfassung: Hara und Hara 1972) dazugerechnet werden.

Die Biosynthese wurde sowohl bei Vertebraten als auch bei Invertebraten vor allem im Zusammenhang mit

der Neusynthese von Photorezeptormembranen untersucht (Zusammenfassung: Young 1975, Blest 1980). In die neugebildeten Membranabschnitte wird aller Wahrscheinlichkeit nach neusynthetisiertes Sehpigment eingebaut. Der Sehfärbstoff könnte als Rhodopsin, aber auch als Metarhodopsin vorliegen. Letzteres wird durch Belichtung in die 11-cis-Form überführt. Obwohl Speicherplätze in rezeptornahen Bereichen des Auges nachgewiesen wurden (Bridges 1976), in denen die 'Bausteine' der lichtempfindlichen Pigmente zwischengelagert werden, ist der Großteil der Fragen zu diesem Themenkomplex, wie Größe der Bausteine, Transport etc., noch ungeklärt.

Einer der Eckpfeiler der Sehpigmentphotochemie in den Photorezeptoren der Invertebraten ist das thermostabile Metarhodopsin. Die Entwicklung von Modellvorstellungen über eventuelle Dunkelregenerationsprozesse wird durch den damit verbundenen energetischen Aufwand für die Hydrolyse der Schiffischen Base zusätzlich erschwert. Eine Photoisomerase, wie das Retinochrom gelegentlich bezeichnet wird (Abrahamson et al. 1972, Hara und Hara 1982, Seki et al. 1980), könnte eine solche Energiebarriere eventuell durch Reaktionen, wie sie für einige Cephalopoden gefunden wurden, nach folgendem Schema überwinden helfen (verändert nach Hara und Hara 1981; die gewellten Pfeile geben Hell-, die glatten Pfeile Dunkelregenerationen an):



Die bislang kontrovers verlaufenden Diskussionen über das mögliche Vorhandensein eines oder mehrerer Dunkelregenerationsmechanismen in Insektenaugen gaben den Anstoß zu dieser Arbeit. Bei dem für die Experimente zur Verfügung stehenden Kleinschmetterling *Ephestia kuehniella* Z. fanden sich ebenso wie in den Komplexaugen anderer Lepitopteren (Bernard 1979, 1983) Hinweise auf eine Entstehung von Rhodopsin in einem Dunkelprozess (Pigler 1979).

Die Mehlmotte eignet sich hervorragend für Untersuchungen zur Sehphysiologie der Insekten - Superpositionsaugen, da sie bereits umfassend untersucht wurde: so liegen genaue ultrastrukturelle Befunde an diversen Mutanten (Horstmann 1973), sowie Untersuchungen über das optische System vor (Kunze 1979).

Kotissek (1978) beschrieb das Sehpigmentsystem eines Grünrezeptors, gebildet aus einem Rhodopsin P530 und einem Metarhodopsin M480. Seine photometrischen Ergebnisse überprüfte er durch elektrophysiologische Experimente. Die methodische Ergänzung durch Fluorometrie erbrachte, daß das Metarhodopsin bei 490 nm maximal absorbiert (Seitz 1982, Lochner 1982). Zudem wurden hierbei Hinweise auf einen zusätzlichen Blau-rezeptor erzielt, mit einem Rhodopsin, dessen Absorptionsmaximum zwischen 430 und 460 nm zu suchen ist.

Detaillierte Untersuchungen über die Sehpigmentausstattung des Mehlmottenauges stellen die Basis zu dieser Arbeit dar. Im Anschluß daran wurden Hinweise auf Dunkelregeneration (Pigler 1979) mit verschiedenen Methoden quantitativ untersucht.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Tiermaterial

Für die Experimente wurde Imagines der Mutante wa von Ephestia kuehniella Z. (Pyrallidae, Lepidoptera) verwendet. Diese eignet sich besonders gut für reflexionsphotometrische Messungen, da ihr sowohl Schirmpigment als auch Pigmentgranula zur Lichtflußsteuerung fehlen (Horstmann 1973). Die kurze Generationszeit von ca. 8 Wochen gewährleistet die ständige Verfügbarkeit frischgeschlüpfter Falter.

In der Aufzucht zeigt sich, daß die Mutante wesentlich empfindlicher ist als Motten des Wildtyps. Als besonders wichtig für gleichbleibende Züchtungserfolge erwiesen sich folgende Faktoren:

1. ausreichende Frischluftzufuhr: die bei Weyrauther (1979) beschriebene Stoffbespannung der Plexiglas-käfige wurde durch dichtschießende Plastikrahmen ersetzt, in die feinmaschige Edelstahlgaze eingeschweißt worden war.

Diese Käfigabdeckung hat nicht nur den Vorteil verstärkter Luftzirkulation und bequemer Säuberung, sondern wird auch gerne von den Wanderraupe als Anheftungsplatz für ihre Puppenkonkone aufgesucht. Der Anteil der Raupen, die sich zu normalen Faltern entwickeln, ist dann höher als bei denen, deren Puppen im Substrat vergraben sind.

2. eine Raumtemperatur nicht unter 18°C. Durch die

verlangsamte Larvalentwicklung wird sonst die Sterblichkeit erhöht.

3. natürliches Futter ohne Konservierungsstoffe. Fütterungsversuche mit gemahlenem Hundekuchen, Weizenkeimen, Bienenhonig, gemahlenem Diätweizen, Eiweiß- und Vitaminpräparaten in verschiedenen Mischungsverhältnissen (modifizierte Haydakmischung nach Wyninger, 1974) zeigten keine positive Beeinflussung der zeitweise hohen Mortalitätsrate von Raupen in präpupalen Phase.

Erfolgreicher war dagegen die Aufzucht mit "Weizendunst", einem Mühlen - Abfallprodukt in Mehlkonsistenz, mit Bestandteilen des ganzen Weizenkornes. Zugabe von Vit. A Palmitat (Vogan Aquat; Merck, Darmstadt) zeigte auch in hohen Dosen keinen Einfluß auf die Raupenentwicklung, bzw. den Sehpigmentgehalt der Imagines.

Zum Versuch kamen nur frischgeschlüpfte, vornehmlich weibliche Tiere, da sich diese als langlebiger erwiesen hatten. Kontrollversuche mit männlichen Moten wiesen keinerlei geschlechtsbedingte Abweichungen in den Meßergebnissen auf.

### 3.2. Präparation des Versuchstieres

Alle Versuche wurden am lebenden Tier durchgeführt. Unter Betäubung mit  $\text{CO}_2$  wurde dieses mit rußgeschwärztem Wachskolophonium in niedrigschmelzendem Mischungsverhältnis auf ein Edelstahlplättchen in Dorsallage aufgeklebt, Flügel und Beine dabei fixiert. Das Abdomen blieb frei beweglich, um ungehinderte Atembewegungen zu gestatten. Optimale Ausrichtung des Meßareals im Komplexauge gelang durch entsprechendes Drehen des Kopfes mit anschließendem Festlegen über die Mundwerkzeuge.

Gleichmäßiges Überschichten des gesamten Objektträgers mit Wachskolophonium (nur über das Abdomen wurde ein tunnelartiger Überbau modelliert) erwies sich als wirkungsvolle Wärmeisolation des auf einen Kühlblock haftenden Objektträgers; die mattschwarze Färbung schaltete Streulichteffekte weitgehend aus.

Zur Vermeidung von Wasserkondensation auf dem gekühlten Objekt wurde eine flexible Kunststoffmanschette über das Objektiv gesteckt, die sich beim Fokussieren des Meßareals über Objektträger und Kühlblock stülpte. In diese Versuchskammer wurde stets ein schwacher Strom getrockneter, dem Kühlblock entsprechend temperierter Luft eingeblasen.

Vorschnelles Austrocknen des Versuchstieres verhinderte die oben beschriebene Überschichtung, da der "Tunnel" die Ausbildung eines feuchteren Mikroklimas

ermöglichte. Versuchsreihen über 2 Wochen Dauer wurden damit durchführbar.

Zur permanenten Temperaturüberwachung befand sich in der Nähe des Versuchstierkopfes ein Termistorfühler (Telethermometer: YSI) mit Kontakt zur Metalloberfläche des Trägerplättchens, eingebettet in Wachs-kolophonium.

### 3.3. Reflexionsspektroskopie

Der Objektträgerkomplex paßte in den vierachsigen Universal - Drehtisch an einem Photomikroskop III, das mit Auflichteinrichtung und Photometer Ol ausgestattet war (Carl Zeiss, Oberkochen). Die Apparatur befand sich in einem lichtdichten Faradaykäfig mit konstanten Bedingungen. Bei den Dunkelregenerationsversuchen konnte das Tier durch zwei getrennte Kühlkreisläufe mit geringer Zeitverzögerung der hohen Temperatur bei Dunkelheit und der tiefen während der Messung ausgesetzt werden (detail. Beschreibung: Pigler 1979).

Auf zwei rechtwinkelig angeordneten optischen Bänken waren je eine Lichtquelle mit Monochromasieeinrichtung und ein elektromagnetischer Verschluß montiert. Am Kreuzungspunkt der Achsen lenkte ein halbdurchlässiger Spiegel die Strahlen in die Beleuchtungsöffnung des Mikroskopes.

Das Isolieren schmaler Banden (10 nm Halbwertsbreite) aus den Emissionsspektren der über stabilisierten Netzgeräten (Carl Zeiss, Oberkochen; EA 3012: Eltronix, Überlingen) betriebenen Halogenlampen (Philips Belaspot, 12V, 100 W) geschah entweder mit einem Monochromator (UV- GIS - Gitter: Bausch & Lomb, Rochester, USA) oder mit Hilfe entsprechender Interferenzfilter (Schott Glaswerke, Mainz); die Dosierung erfolgte mit Neutralfiltern. Exakte Be-

lichtungszeiten ermöglichten elektromagnetische Verschlüsse (Compur: Printerwerk, Calmbach).

Die Quantenstromdichte von ca  $10^{10} \text{ Q s}^{-1} \text{ cm}^{-2}$  wurden regelmäßig mit einem über eine Thermosäule (Kipp und Zonen) geeichten Siliciumelement (PIN 10 DF: United Technology, Santa Monica, Californien) an der Objektstelle auf Konstanz überprüft.

Das Meßareal auf der Cornea entsprach der Fläche von 7 Ommatidien; Apertur- und Leuchtfeldblende des Mikroskopes waren so eingestellt, daß die Randstrahlen beim Austritt aus dem Objektiv (Epiplan 16/0.35 "POL": Carl Zeiss) parallel zu optischen Achse der äußeren 6 Ommatidien verliefen. Der von der reflektierten Strahlung initiierte Photometerstrom wurde nach Verstärkung auf einem Zweikanal - Potentiometer-schreiber (Servogor 2 S; Metrawatt, Nürnberg) aufgezeichnet. Die Temperaturregistrierung war nach Belieben zuschaltbar.

Die oben beschriebene Versuchsanordnung konnte auch zur raschen Aufnahme von Reflexionsspektren im Wellenlängenbereich von 390 - 630 nm eingesetzt werden. Die Durchlaufzeiten ließen sich über einen stufenlos regelbaren Monochromator - Motorvortrieb beliebig variieren. Die Geschwindigkeit von  $6 \text{ nm s}^{-1}$  erwies sich am günstigsten.

Da für die Testwellenlängen die Quantenstromdichte

auf  $10^5$  Q/Ommatidium.s reduziert werden mußte, um Photokonversion nach Möglichkeit zu vermeiden, entsprach hier das gesamte Komplexauge dem Meßfeld, die Apertur- und die Leuchtfeldblenden wurden entsprechend geändert. Die Intensitätsschwankungen über den angegebenen Spektralbereich wurden durch Blau-glaskombinationen (FG3, BG 38: Schott Glaswerke) und durch einschwenkbare Graufilter auf ein einheitliches Quantenniveau abgestimmt.

Um Photokonversion während der Aufnahme der Reflexionsspektren ausschließen zu können, wurden Tests mit Hintergrundlichtern durchgeführt. Langpaßfilter (OG oder RG: Schott Glaswerke) oder ein spezialan-gefertigter Kurzpaßfilter (Kantenlage 495 nm: Schott Glaswerke) verhinderten ein Eindringen dieser Adaptationslichter hoher Intensität in den Photomultiplier-Eingang. Auf diese Weise ergab sich als befriedigender Kompromiß bezüglich Empfindlichkeit der Apparatur und minimaler Meßintensität die oben genannte Quantenstromdichte.

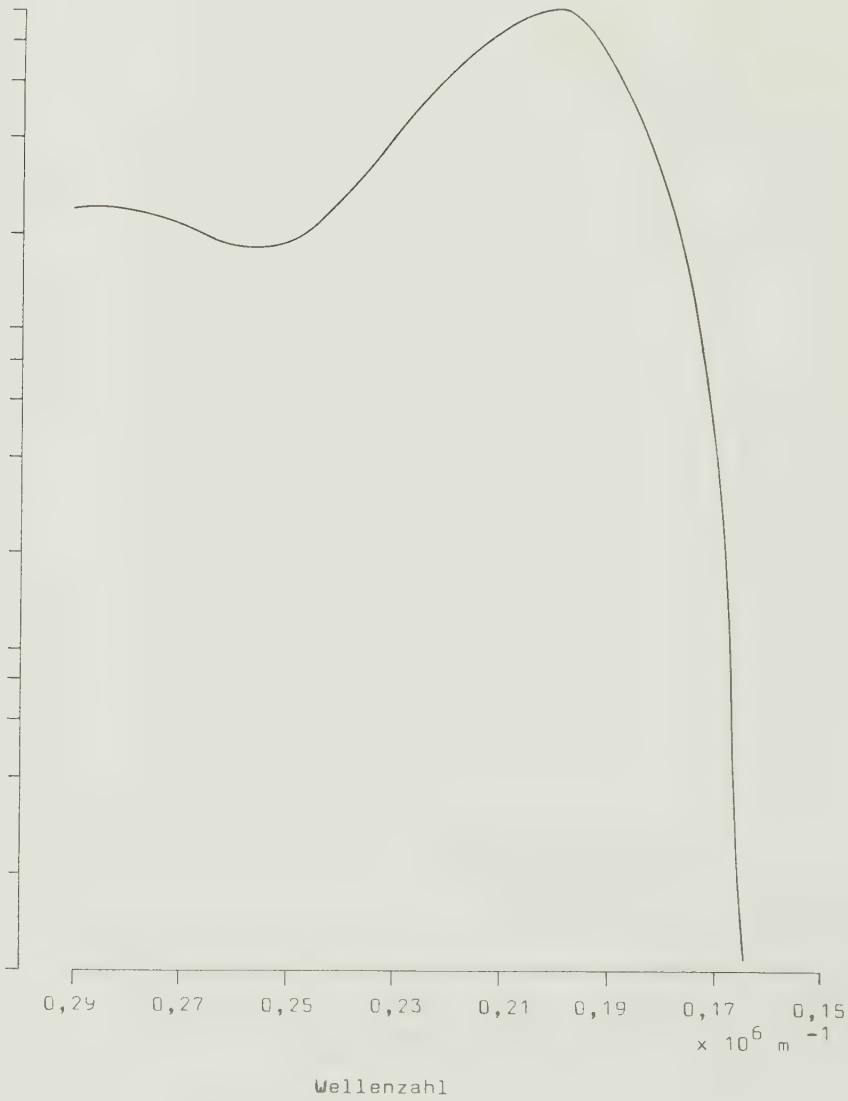
### 3.4. Elektrophysiologie

Für die ERG-Messungen wurden auf den Objektträgerkomplex zwei Miniaturmikromanipulatoren aufgesteckt. Elektrolytisch zugespitzte Insektennadeln (Größe 00) dienten als Elektroden, wobei die indifferente im Hämolympхраum des Metathorax steckte. Die differente Elektrode wurde so in das Auge eingestochen, daß sich ihre Spitze im Bereich der 7 Ommatiden befand. Die abgegriffenen Potentiale wurden nach Verstärkung (Elektrometer 750: W-P Instruments Inc.) auf dem Zweikanalschreiber registriert. Als Zeitgeber für die Testreizabstände diente ein Kymographenlaufwerk, das einen elektromagnetischen Verschluß (Belichtungszeit) steuerte.

### 3.5. Körpertemperaturmessung

Zur Messung der Versuchstiertemperatur während der Experimente zur Dunkelregeneration wurden selbstgefertigte Kupfer-Konstantan-Thermoelemente ( $\varnothing$ : 20  $\mu$ m; Heräus, Hanau) während des Zieh-Vorganges derart in Glaskapillaren eingeschmolzen, daß die Verbindungsstelle der beiden Metalle ca. 200  $\mu$ m aus der Öffnung der Kapillare herausragte. Mit Hilfe eines Mikromanipulators konnten die Thermoelemente reproduzierbar in den dem Augenstand naheliegenden





Absorptionsspektrum von Rhodopsin (Mittelwertskurve aus Literaturdaten, s. Text) im Raster der typischen Farbkurven.

ventrolateralen Kopfbereich eingeführt werden.

### 3.6. Datenverarbeitung

Für die Interpretation der Differenzspektren stand ein Kleincomputer (Sinclair ZX 80) zur Verfügung, ausgestattet mit Cassettenrecorder - Interface, 16 K Speicherkapazität und Bildschirmanschluß.

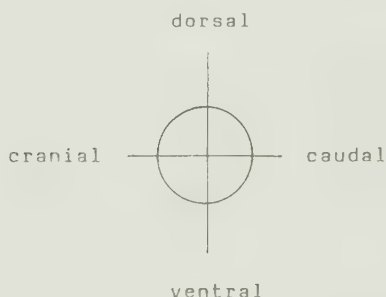
Testläufe während der Programmerstellung konnten an der Großrechenanlage Cyber 173 des Rechenzentrums der Universität Erlangen-Nürnberg durchgeführt werden.

Die Datenbasis für die Computerberechnungen stellten modifizierte Dartnall - Nomogramme (Dartnall 1953; Ebrey und Honig 1977) dar, aus denen sich Absorptionskurven theoretischer Rhodopsine mit Absorptionsmaxima im Wellenlängenbereich von 350 - 600 nm ermitteln ließen. Die Modifikation der Nomogramme bestand darin, daß die Flanke zu kurzen Wellenlängen nach Literaturwerten (Schlecht 1979; Schwemer und Langer 1982; Honig et al. 1982; Hamdorf 1979; Langer et al. 1979; Schlecht et al. 1978) korrigiert wurden, da als gesichert gelten kann, daß die herkömmlichen Nomogramme in diesem Bereich nur unzulängliche Näherungen darstellen.

### 3.7. Symbole und Definitionen



: symbolisiert das Komplexauge, aufgeteilt  
in 4 Quadranten:



Schraffuren verdeutlichen die Lage des  
Meßareals:



- Meßbereich dorso - cranial

- Messung am gesamten Komplexauge

S (röm. Zahl): Kurzschreibweise für Sehpigmentsystem  
I oder II und Pigmentsystem III

Beispiel: SI (P530, M490, 1.8, 1.0,  
0.4)

SI = Sehpigmentsystem I

P530: Rhodopsin  $\lambda_{\max.} = 530 \text{ nm}$

M490: Metarhodopsin  $\lambda_{\max.} = 490 \text{ nm}$

1.8 : Amplitudenverhältnis der maxi-  
malen Absorptionskoeffizienten

$$\frac{\alpha_M}{\alpha_P}$$

1.0 : relative Pigmentgesamtkonzen-  
tration (bezogen auf SI = 1.0)

0.9: Quotient der Isomerisationsquantenausbeuten  $\gamma_M/\gamma_P$

X,Y: bezeichnet die photometrischen thermostabilen Stadien des Pigmentsystem III.



#### 4. Ergebnisse: Charakterisierung der Pigmentsysteme

##### 4.1. Differenzspektren

Die Differenzspektren wurden entweder aus Extinktionsänderungsmessungen (vergl. Haeckel 1978) oder aus Reflexionsspektren direkt gewonnen.

Die erste Methode erlaubte eine Meßarealgröße von 7 Cornea-Facetten, was eine differenzierte Untersuchung der verschiedenen Augenbereiche ermöglichte.

Die Extinktionsänderungen wurden aus Reflexionsänderungen bei variablen Testwellenlängen  $\lambda_T$  nach vorausgegangener saturierender Vorbelichtung mit  $\lambda_A$  berechnet (Gl. 1). Aus zwei Extinktionsänderungsspektren ungleicher Adaptationswellenlängen ( $\lambda_{A1} \neq \lambda_{A2}$ ) erhält man das Differenzspektrum (Gl. 14), welches nach Normierung auf den Maximalwert nur durch die Differenz der relativen molaren Absorptionskoeffizienten bestimmt wird (Gl. 17, vergl. Hamdorf et al. 1973).

Auf Grund der geforderten niedrigen Intensitäten der Testlichter konnten mit der zweiten Methode nur Messungen am gesamten Komplexauge durchgeführt werden. Nach Einstellung eines  $\lambda_A$ -abhängigen Photogleichgewichts wurde bei kontinuierlicher Belichtung in 40 s ein Wellenlängenbereich von 390 - 635 nm durchlaufen. Jeder der so erhaltenen Meßwerte entspricht dem  $R_0$ -Wert einer Photokonversions-

messung zu Beginn der Testwellenlängeneinstrahlung: Eine Verfälschung der Reflexionsspektren durch gleichzeitig induzierte Photoisomerisation war vernachlässigbar gering, wie aus Kontrollversuchen mit Hintergrundbelichtung (vergl. Methode) zu ersehen war.

Die Reflexionswerte zweier voneinander verschiedener Photogleichgewichtszustände ( $\lambda_{A1} \neq \lambda_{A2}$ ) wurden anschließend direkt zu Differenzspektren verrechnet (Gl. 13), die nach Normierung den gleichen Aussagewert beinhalten, wie die aus Methode 1 gewonnenen.

Differenzspektren eines einzigen interkonvertiblen Pigmentsystems werden üblicherweise durch Substraktion von aus Nomogrammen ermittelten Absorptionskurven interpretiert. Sind dagegen mehrere unabhängige Systeme in ihrer photometrischen Wirkung kombiniert, dann ist ein Differenzspektrum eine Summenkurve, die pro System 4 unbekannte Parameter zusätzlich enthält: Die Wellenlängen maximaler Absorption des Ausgangsfarbstoffes Rhodopsin P und des Photoprodukts Metarhodopsin M, das Verhältnis der maximalen molaren Absorptionskoeffizienten  $\alpha_M / \alpha_P$ , sowie der relative Anteil an der Gesamtpigmentmenge in der Probe.

Durch das Fehlen befriedigender Anpassungsmöglichkeiten bei einem Großteil der gemessenen Spektren bestätigten sich die Ergebnisse von Seitz (1982), Lochner (1982) und Kotissek (1983), daß im Auge der Mehlmotte mehr als nur ein Pigmentsystem (P530, M490, 1.8)

vorhanden sein muß.

Erst über das Erstellen eines Computerprogrammes (Programm I) für die Berechnung theoretischer Differenzspektren bei Zusammenwirken von bis zu 4 Pigmentsystemen ließen sich Aussagen über die Größe der Parameter machen. Die Anpassungen wurden durch gezielte Veränderungen der Variablen über Bildschirmvergleich der Grafiken normierter Differenzspektren optimiert, bis die bestmögliche Übereinstimmung mit den Meßergebnissen erzielt wurde.

Zur Kontrolle war der Computer außerdem in der Lage, durch ein Suchprogramm (Programm II) über kontinuierliche Variationen der Parameter die besten Anpassungen selbst zu ermitteln, die dann mit den zuvor gefundenen Übereinstimmen mußten.

Da gelegentlich mehrere Anpassungsmöglichkeiten gleich gute Übereinstimmung zeigten, konnte nur durch Parallelbetrachtung von Differenzspektren mit unterschiedlichen Vorbelichtungswellenlängenpaaren über eventuelle Zufälligkeiten entschieden werden. Nach Überprüfung einiger hundert theoretischer Spektren wurde über Ausschlußverfahren eine Anpassungsgenauigkeit erzielt, die sich zumindest mit den zu dieser Arbeit verfügbaren methodischen Möglichkeiten nicht weiter verbessern ließ.

Um die Auswertmethode zu überprüfen, wurde zu Be-

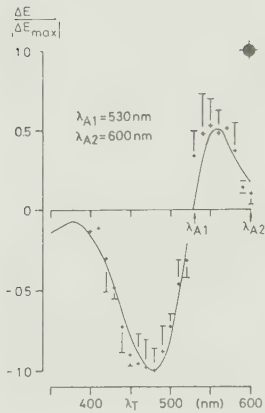


Abb. 1: Differenzspektrum aus Absorptionsspektren mit den Adaptationswellenlängen  $\lambda_{A1} = 530$  nm und  $\lambda_{A2} = 600$  nm.

Durchgezogene Kurve: theoretisches Differenzspektrum für SI (P530, M490, 1.8, 1.0)

Meßpunkte: Mittelwerte aus 15 Versuchsreihen an 5 Tieren.

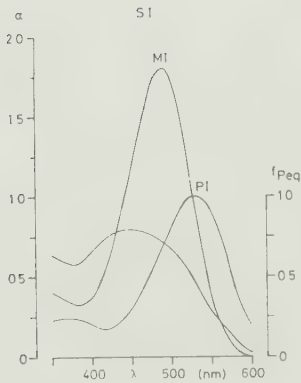


Abb. 2: Relative Absorptionsspektren von SI. Die nicht näher bezeichnete Kurve gibt die Rhodopsinfraktion als Funktion der Wellenlänge an ( $t \rightarrow \infty$ ).

ginn Differenzspektren bearbeitet, die auf Grund der Erfahrungen der Arbeitsgruppe eindeutige Aussagen über das bistabile Sehpigmentsystem eines Grünrezeptors zulassen. Tatsächlich zeigt die normierte Differenzkurve aus Reflexionsspektren mit den Vorbelichtungswellenlängen  $\lambda_{A1} = 530 \text{ nm}$  und  $\lambda_{A2} = 600 \text{ nm}$  gute Übereinstimmung mit der unter Annahme eines Rhodopsin P530 und eines Metarhodopsin M490 mit dem Amplitudenverhältnis der Absorptionsmaxima  $\alpha_M / \alpha_P = 1.8$  konstruierten Grafik (Abb. 1). Im weiteren soll dieses Sehpigmentsystem mit SI bezeichnet werden (Abb. 2).

Wird dagegen mindestens eine Adaptationswellenlänge aus dem kurzwelligen Bereich ( $\lambda_A < 530 \text{ nm}$ ) gewählt, zeigt sich, daß außer den oben genannten noch weitere photokonvertible Systeme die Meßwerte beeinflussen. Nur die Einbeziehung zweier zusätzlicher Pigmentsysteme brachten empirische und berechnete Werte in Einklang. Das erste ist ein im Blauen absorbierendes Pigment P450 mit einem Metarhodopsin M490 (s. Lochner 1982, Kotissek 1983) und einem Amplitudenverhältnis von 1.3, was eine Abweichung zu dem von Lochner (1982) gefundenen  $\alpha_M / \alpha_P = 1,05$  darstellt (Abb. 3).

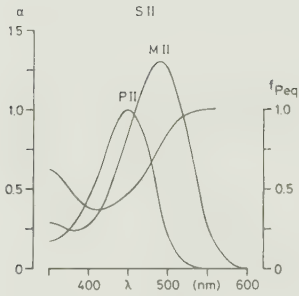


Abb. 3: Relative Absorptionsspektren von SII und Rhodopsinfraktion in Abhängigkeit von der Wellenlänge für  $t \rightarrow \infty$ .

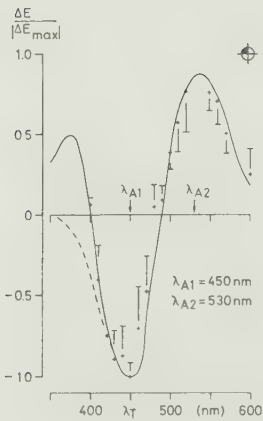


Abb. 4: Differenzspektrum aus Absorptionsänderungsspektren mit den Adaptationswellenlängen

$\lambda_{A1} = 450 \text{ nm}$ ,

$\lambda_{A2} = 530 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve:  
theoretisches Differenzspektrum für SI (P530, M490, 1.8, 1.0) + SII (P450, M490, 1.3, 0.8) + SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0)

Gestrichelte Kurve: nur SI + SIII.

Meßpunkte: Mittelwerte aus 18 Versuchsreihen an 6 Tieren.

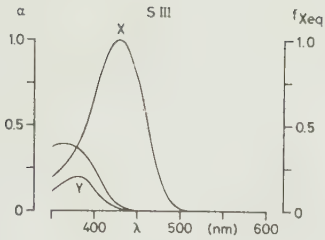


Abb. 5: Relative Absorptionsspektren von SIII. Zusätzlich wurde noch die relative Konzentration des Ausgangsfarbstoffes X als Funktion der Wellenlänge eingezeichnet.

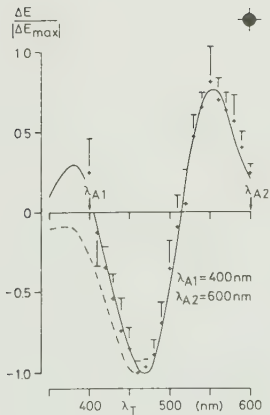


Abb. 6.: Differenzspektrum aus Absorptionsspektren mit den Adaptationswellenlängen

$\lambda_{A1} = 400 \text{ nm}$  und

$\lambda_{A2} = 600 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisches Differenzspektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0) +

SII (P450, M490, 1.3, 0.2) +

SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0).

Gestrichelte Kurve: SI + SII ohne SIII.

Meßpunkte: Mittelwerte aus 15 Versuchsreihen an 5 Tieren.

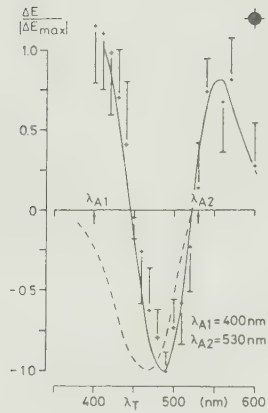


Abb. 7: Differenzspektrum aus Absorptionsspektren mit den Adaptationswellenlängen  $\lambda_{A1} = 400 \text{ nm}$  und  $\lambda_{A2} = 530 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisches Differenzspektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0) +

SII (P450, M490, 1.3, 0.25) +

SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0).

Gestrichelte Kurve: SI + SII ohne SIII.

Meßpunkte: Mittelwerte aus 12 Meßreihen an 4 Tieren.

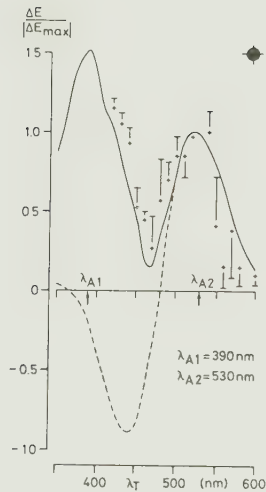


Abb. 8: Differenzspektrum aus Absorptionsspektren mit Adaptationswellenlängen  $\lambda_{A1} = 390 \text{ nm}$  und  $\lambda_{A2} = 530 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisches Differenzspektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0) +

SII (P450, M490, 1.3, 0.3) +

SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0).

Gestrichelte Kurve: SI + SII, ohne SIII. Meßpunkte

Mittelwerte aus 9 Versuchsreihen an 3 Tieren.

In Abb. 4 verdeutlicht die gestrichelte Kurve den anhand obiger Parameter (SI: P530, M490, 1.8 und SII: P450, M490, 1.3) zu erwartenden Verlauf unter Annahme des Gesamtpigmentkonzentrationsverhältnisses  $CSII/CSI = 0,8$ . Es fällt auf, daß im Testwellenlängenbereich unter 430 nm die über Absorptionsänderungsmessungen ermittelte Kurve zunehmend von der theoretischen abweicht. Die Variation der Parameter von SII (vergl. Abb. 3) führte in keinem Fall zu einer Verbesserung der Anpassung, nur die Einbeziehung eines dritten Systems zeigte Erfolg. Es handelte sich hierbei um einen weiteren im Blauen absorbierenden Farbstoff X ( $\lambda_{max} = 430$  nm), dessen Photoprodukt Y bei 380 nm maximal absorbiert. Völlig unerwarteterweise zeigt das Amplitudenverhältnis der Maxima der Absorptionskoeffizienten der beiden Stadien einen Wert von 0,2. Die Gesamtpigmentmenge von SIII (Abb. 5) entspricht in etwa der des SI. Gestützt wird die Annahme von SIII durch Ergebnisse bei den Adaptationswellenlängen  $\lambda_{A1} = 400$  nm und  $\lambda_{A2} = 600$  nm (Abb. 6), ebenso wie bei  $\lambda_{A1} = 400$  nm und  $\lambda_{A2} = 530$  nm (Abb. 7) und bei  $\lambda_{A1} = 390$  nm und  $\lambda_{A2} = 530$  nm (Abb. 8). Stets zeigte die unter Einbeziehung von SIII berechnete Kurve eine sehr gute Übereinstimmung mit den Meßpunkten, während die Beschränkung auf SI und SII vor allem in kurzwelligen Spektralbereich nicht befriedigen konnte. Die Differenzen zwischen Meß- und Anpassungskurven

der Abb. 7 und 8 lassen sich nur mit zunehmendem Einfluß des dritten Pigmentsystems SIII erklären. Nach Adaptation auf die Wellenlänge  $\lambda_{A1} = 400 \text{ nm}$  und  $\lambda_{A2} = 530 \text{ nm}$  wird die erste Nullstelle der Differenzkurve, die in Abb. 6 noch bei ca. 400 nm liegt, um fast 50 nm zu größeren Wellenlängen hin verschoben. Wird die erste Adaptationswellenlänge ( $\lambda_{A1}$ ) um 10 nm auf 390 nm verkürzt, resultiert ein rein positives Differenzspektrum ohne Abszissenschnittpunkte.

In den Differenzspektren aus Reflexionsmessungen wurden allgemein Unterschiede in den Konzentrationsverhältnissen zwischen SII und SI festgestellt, die zwischen 0,05 und 0,35 schwanken. So wurde für die Kurve von Abb. 7 eine relative SII-Konzentration von 0,2 und in Abb. 8 eine mit 0,3 festgestellt. Die Streuung dieser Werte legt die Vermutung nahe, daß individuelle Schwankungen in der Sehpigmentausrüstung der einzelnen Versuchstiere eine zusätzliche Rolle spielen dürfte. SIII dagegen scheint über die Rezeptoren des ganzen Auges homogen verteilt vorzuliegen; die Menge dürfte in etwa der des SI entsprechen.

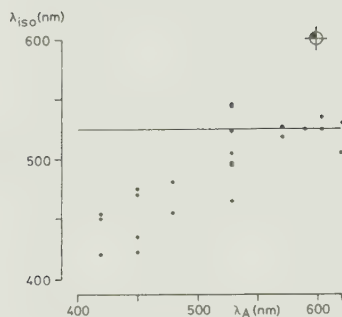


Abb. 9: Abweichungen der in der Absorptionsänderungsspektren gefundenen Abszissenschnittpunkte ( $\lambda_{iso}$ ) vom theoretisch berechneten isosbetischen Punkt des Sehpigmentsystems SI (P530, M490, 1.8) bei 525 nm (durchgezogene Abszissenparallele) in Abhängigkeit der Adaptationswellenlänge ( $\lambda_A$ ).

#### 4.2. Isosbestischer Punkt in Abhängigkeit von $\lambda_A$

Bereits bei den Versuchen zur Charakterisierung des Grünrezeptors von Ephestia kuehniella (Kotissek 1978) fielen Absorptionsänderungsspektren auf, deren Abszissenschnittpunkt mit dem für ein Pigmentsystem P530, M490 berechneten isosbestischen Punkt nicht übereinstimmte. Dieser sollte für SI stets bei ca. 525 nm liegen, gleichgültig von welchem Photogleichgewicht bei den Messungen ausgegangen wurde (durchgezogene Abszissenparallele in Abb.9). Wie in Abb. 9 dargestellt, trifft dies nur für den langwelligen Bereich des Spektrums zu. Für  $\lambda_A = 530$  nm wandert  $\lambda_{iso}$  zunehmend in den kurzwelligen Spektralbereich.

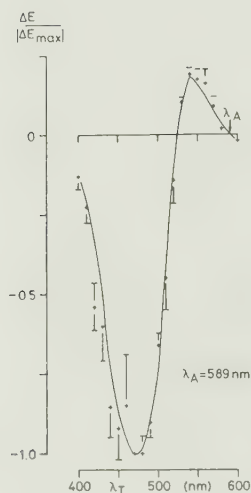


Abb. 10: Absorptionsänderungsspektrum nach  $\lambda_A = 589 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes Spektrum für SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9)  
 Meßwerte sind Mittelwerte aus 4 Messungen an 4 Tieren.

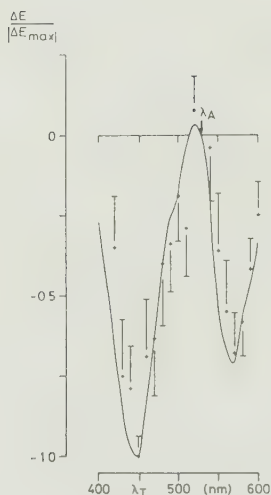


Abb. 11: Absorptionsänderungsspektrum nach  $\lambda_A = 528 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes Spektrum für SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9) + SII (P450, M490, 0.3, 0.6, 1.1)  
 Meßpunkte: Mittelwerte aus 5 Meßreihen an 5 Tieren.

#### 4.3. Extinktionsänderungen als Funktion der Testwellenlänge ( $\lambda_A = \text{const.}$ )

Diese Variante der Extinktionsänderungsmessung bedingt eine  $\lambda_T$  - abhängige Neueinstellung des photochemischen Gleichgewichts der Sehpigmentstadien, ausgehend von einem über  $\lambda_A$  fest vorgegebenen Fraktionsverhältnis von Rhodopsin und Metarhodopsin (Gl. 18, 19). Ist die Konzentration des Pigmentsystems SII vernachlässigbar klein, folgt die Meßkurve ausschließlich den Absorptionscharakteristiken von SI. Daher wurde vor allem im oberen cranialen Augenquadranten gemessen, da, wie noch im einzelnen dargestellt, besonders in diesem Bereich SII seinen Einfluß deutlich macht.

Als Parameter für die theoretischen Berechnungen der Extinktionsänderungen ist, zusätzlich zu den bereits bekannten, noch der Quotient der Isomerisierungsausbeuten für Rhodopsin und Metarhodopsin ( $\nu_M/\nu_p$ ) mit einzubeziehen (Gl. 6, 18).

Zur Bestimmung von  $\nu_M/\nu_p$  des Pigmentsystems SI wurden Meßreihen nach sättigender Vorbelichtung mit 589 nm gewählt, da dabei eine Beeinflussung durch SII praktisch ausgeschlossen werden kann. Diese Annahme wird bestätigt durch die zufriedenstellende Übereinstimmung von Meßwerten und Anpassungskurve (Abb. 10), bei der nur SI (P530, M490, 1.8) mit dem Verhältnis  $\nu_M/\nu_p = 0,9$  berücksichtigt wurde.

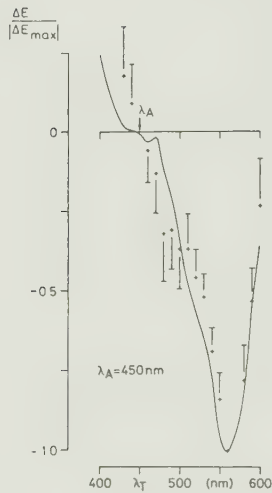


Abb. 12: Absorptionsänderungsspektrum mit  $\lambda_A = 450$  nm.

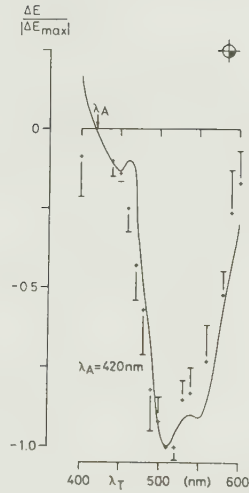
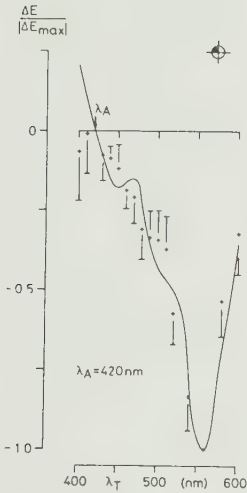
Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes Spektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9) +

SII (P450, M490, 1.3, 0.6, 1.1) +

SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0, 1.0)

Meßpunkte: Mittelwerte aus 5 Versuchsreihen an 5 Tieren.



Absorptionsänderungsspektren nach  $\lambda_A = 420 \text{ nm}$ :

Abb. 13: ventro-caudale Meß-region. Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes

Spektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9)+  
SII (P450, M490, 1.3, 0.3, 1.1)+  
SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0, 1.0)

Meßpunkte: Mittelwerte aus je-  
weils 3 Versuchsreihen an  
3 Tieren.

Abb. 14: dorso-craniale Meß-region. Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes

Spektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9)+  
SII (P450, M490, 1.3, 0.9, 1.1)  
SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0, 1.0)

Meßpunkte: Mittelwerte aus je-  
weils 3 Versuchsreihen an  
3 Tieren.

Wird eine Anpassung an Meßwerte für  $\lambda_A = 528 \text{ nm}$  angestrebt, zeigt sich, daß hier die Einbeziehung des SII bei der Berechnung theoretischer Extinktionsänderungen mit  $\nu_M/\nu_p = 1,1$  unumgänglich ist (Abb. 11). Die Verhältnisse von  $\nu_M/\nu_p$  stellen für beide Systeme eine Bestätigung der von Lochner (1982) gefundenen Werte dar.

Abb. 12 zeigt den Versuch, das Extinktionsänderungsspektrum mit  $\lambda_A = 450 \text{ nm}$  über Berechnungen zu interpretieren. Eine tendenzielle Übereinstimmung im Bereich des positiven Kurvenanteil ( $\lambda_T < 450 \text{ nm}$ ) wurde nur unter zusätzlicher Einbeziehung von SIII erreicht. Für SIII (X430, Y380, 0.2) wurde für  $\nu_M/\nu_p$  der Wert 1.0 ermittelt, die Gesamtkonzentration entspricht der des SI.

Meßergebnisse aus verschiedenen Augenbereichen und theoretischen Kurven für Extinktionsänderungen nach gleicher Vorbelichtung ( $\lambda_A = 420 \text{ nm}$ ) sind zum Vergleich in den Abb. 13 und 14 dargestellt. In Abb. 13 war dies der ventro-caudale, in Abb. 14 der dorso-craniale Quadrant. Die regionale Konzentrierung des SII im letzteren Bereich zeigt sich in einem Mengenverhältnis von CSII/CSI = 0,9, während in der ventro-caudalen Region ein Konzentrationsverhältnis von max. 0,3 vorzufinden ist.

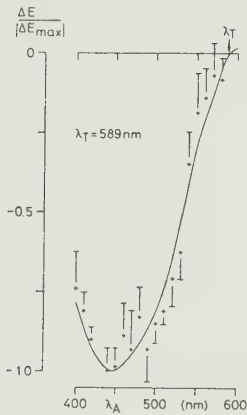


Abb. 15: Absorptionsänderungsspektrum mit  $\lambda_T = 589 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes Spektrum für SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9)

Meßpunkte: Mittelwerte aus 4 Versuchsreihen an 4 Tieren.

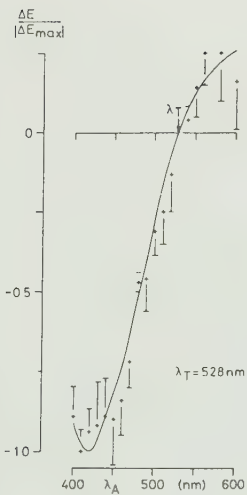


Abb. 16: Absorptionsänderungsspektrum mit  $\lambda_T = 528 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes Spektrum für SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9) + SII (P450, M490, 1.3, 0.8, 1.1)

Meßpunkte: Mittelwerte aus 4 Versuchsreihen an 4 Tieren.

#### 4.4. Extinktionsänderung in Abhängigkeit von der Adaptationswellenlänge ( $\lambda_T = \text{const.}$ )

Meßwerte und theoretische Kurven nach unterschiedlich eingestellten photochemischen Gleichgewichten bei jeweils festen Testwellenlängen sind in Abb. 15 bis 18 dargestellt. Bei allen Versuchsreihen lagen die untersuchten Sinneszellen im dorso-cranialen Augenquadranten.

Erwartungsgemäß läßt sich bei der Testwellenlänge 589 nm (Abb. 15) eine gute Übereinstimmung von empirischen und theoretischen Werten für ein Pigmentsystem SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9) erreichen, da bei dieser Wellenlänge das Metarhodopsin des SII nurmehr vernachlässigbar gering absorbiert (vergl. Abb. 3).

In Abb. 16 dagegen wird bei  $\lambda_T = 528$  nm der Kurvenverlauf in erster Linie durch die Absorptionseigenschaften des Pigmentsystems SII (P450, M490, 1.3, ..., 1.1) bestimmt. Da die Testwellenlänge nahe bei  $\lambda_{\text{iso}}$  von SI liegt (vergl. Abb. 2), bewirkt dieses nur kleine Extinktionsänderungen. Für SII dagegen liegt  $\lambda_T = 528$  nm im Bereich des maximalen Absorptionsverhältnisses  $\alpha_M / \alpha_P$ . Für  $\lambda_A < 530$  nm läßt sich die Meßkurve tatsächlich durch eine für SII berechnete Kurve - ohne Einbeziehung von SI - zufriedenstellend annähern. Im langwelligen Kurventeil (Abb. 16), nach dem Abszissenschnittpunkt, kann aber

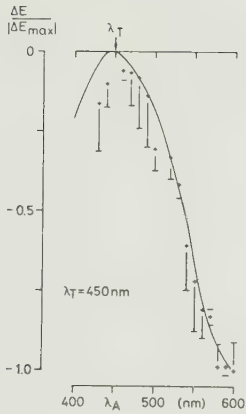


Abb. 17: Absorptionsänderungsspektrum mit

$\lambda_T = 450 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve:

theoretisch berechnetes Spektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9) +

SII (P450, M490, 1.3, 0.1-0.8, 1.1)

Meßpunkte: Mittelwerte aus 6 Versuchsreihen an 6 Tieren.

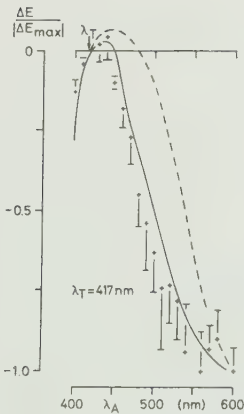


Abb. 18: Absorptionsänderungsspektren mit

$\lambda_T = 420 \text{ nm}$ .

Durchgezogene Kurve:

theoretisch berechnetes Spektrum für

SI (P530, M490, 1.8, 1.0, 0.9) +

SII (P450, M490, 1.3, 0.9, 1.1) +

SIII (X430, Y380, 0.2, 1.0, 1.0)

Meßpunkte: Mittelwerte aus 4 Versuchsreihen an 4 Tieren.

Gestrichelte Kurve: nur SI

SI nicht länger vernachlässigt bleiben. Hier wird auch eine Aussage über das Mengenverhältnis der Systeme ermöglicht, das mit dem Wert 0.8 (CSII/CSI) angenommen wurde. Der Einfluß von SIII auf die theoretische Kurve ist vernachlässigbar klein.

Entsprechende Verhältnisse liegen in der in Abb. 17 dargestellten Meßreihe vor. Die Testlichtwellenlänge von 450 nm lag nahe am isosbestischen Punkt von SII (Abb. 3). Die Berechnungen ergeben gleichermaßen befriedigende Angleichungen an die Meßpunkte bei relativ großen SII - Konzentrationen (CSII/CSI bis 0.8), wie auch bei sehr kleinen (CSII/CSI = 0,1).

Der Einfluß des SII ist demnach zu vernachlässigen, was wiederum die Annahme des isosbestischen Punktes von SII an dieser Stelle untermauert. SIII zeigt keine zu berücksichtigende Wirkung auf die theoretischen Kurven.

Völlig anders ist die Situation dagegen in Abb. 18 zu bewerten. Bei der Testwellenlänge  $\lambda_A = 420$  nm sind Komponenten aller drei Pigmente in den gemessenen Extinktionsänderungen beteiligt, was die deutlichen Abweichungen der Meßpunkte von der theoretischen Kurve nur eines Sehpigmentsystems (SI) bestätigt. Ein gut angepaßter Kurvenverlauf war nur unter Berücksichtigung von SII in hoher Konzentration (CSII/CSI = 0,9) und zusätzlicher Berücksichtigung von SIII (CSIII/CSI = 1,0) zu erzielen.

## 5. Diskussion der Pigmentsysteme

Eine bewährte Methode zur Charakterisierung von Seh-pigmentsystemen ist die Ermittlung von Differenzspek-tren (Gl. 13, 17) aus Extinktionsänderungsspektren. Bei den hier verfügbaren Quantenstromdichten sind jedoch Meßzeiten von etwa 48 h zur Aufnahme von Spek-tren nach zwei Adaptationswellenlängen nötig. Wäh-rend einer solch langen Dauer sind Veränderungen im Auge nicht auszuschließen. Außerdem ist es dadurch nicht möglich, mehrere Differenzspektren pro Ver-suchstier zu ermitteln.

Obwohl bei Ephesttia kuehniella (Wildtyp) keine circa-diane Rhythmik in der Schirmpigmentgranulastellung in den Ommatidien (Weyrauther 1982) und der elektr-ischen Antwort (Kotissek 1983) nachgewiesen werden konnte, zeigte sich doch bei der Mutante wa, daß die Extinktionsänderungen mit zunehmendem Alter des Tie-res bei einer gleichzeitigen Abnahme der Gesamtre-flexion kleiner werden. Da die Ursache hierfür nicht bekannt war, mußte versucht werden, diese Alterungs-effekte auszuschließen. Dies gelang durch Aufnahme von Reflexionsspektren, die die Registrierzeit für ein Differenzspektrum auf 80 s (ohne Adaptations-zeit) verkürzten.

Problematisch an dieser Methode ist die Veränderung des Photogleichgewichts während der 40 s, die zum Durchlauf des Testwellenlängenspektrums nach sätti-

gender Bestrahlung bei einer Adaptationswellenlänge benötigt werden. Überprüft wurde dies einerseits mit  $\lambda_A$  als Hintergrundbelichtung, die das Photogleichgewicht während des Durchlaufs konstant hielt (s. Methode), als auch durch Umkehr der Richtung der Testwellenlängen von  $350 \rightarrow 630$  nm auf  $630 \rightarrow 350$  nm. Die Tatsache, daß Spektren, die sich nur in der Durchlaufrichtung unterschieden, identisch waren, beweist, daß keine meßbare Photokonversion stattgefunden hatte; sonst hätten sich hier Unterschiede im Kurvenverlauf ergeben müssen, da in jedem der beiden Fälle die photochemischen Gleichgewichte der Pigmentssysteme in der entsprechenden Richtung des Testwellenlängenvorlaufs 'vorhergeschoben' worden wären. In den Experimenten dieser Arbeit wurde der Wellenlängenvortrieb stets nur in Richtung  $350 \rightarrow 630$  nm betätigt, da sonst die Konstanz der Marker (5 - nm - Abstand) zur Ermittlung der Reflexionswerte in Frage gestellt worden wäre.

Die kurze Meßdauer ermöglichte eine große Anzahl von Einzelmessungen pro Versuchstier und dadurch, nach Mittelwertbildung, erhöhte Genauigkeit. Dadurch gelang es die langgehegte Vermutung zu bestätigen, daß Ephestia kuehniella einen Blaurezeptor besitzt; dieser wurde reflexionsspektroskopisch mit konkreten Daten belegt, nachdem Kotissek (1983) diesen elektrophysiologisch nachgewiesen hatte. Die Superpositionsaugen der Mehlmotte beinhalten demnach zwei Sehpig-

mentsysteme, ein im Grünen absorbierendes P530 und ein im Blauen absorbierendes P450, wobei die Metarhodopsine ein  $\lambda_{\max} = 490 \text{ nm}$  (M490) haben. Zusätzlich konnte aus den Spektren (Abb. 4, 6, 7, 8) auf ein drittes Pigmentsystem geschlossen werden, dessen Absorptionsmaxima bei 430 nm und bei 380 nm liegen (Abb. 5).

Die insgesamt drei Pigmentsysteme führen dann zu solchen, einem herkömmlichen Differenzspektrum so unähnlichen Kurven wie in Abb. 9. Das ausgeprägte Maximum im Bereich kurzer Wellenlängen und das Fehlen eines Abszissenschnittpunktes nach den Adaptationswellenlängen 390 und 530 nm sind in erster Linie auf SIII zurückzuführen. Dieses System (Abb. 5) weist bis 350 nm keinen isosbestischen Punkt auf; stets bleibt die Absorption des Photoprodukts unter der des Ausgangsfarbstoffes, die Absorptionscharakteristik wird nur bestimmt durch die relative Annäherung der Flanken. Auf Grund der großen Unterschiede in den maximalen Absorptionskoeffizienten können deren Differenzen trotzdem sehr groß werden. Das Photogleichgewicht liegt aber immer auf der Seite des Photoprodukts, die Fraktion des Ausgangsfarbstoffes erreicht bei 370 nm ihren Maximalwert mit 0,4. Bei 390 nm ( $=\lambda_A$ ) wird durch saturierende Belichtung eine Konzentration von immerhin 85% der Maximalfraktion eingestellt.

Die Festlegung, welches der beiden Stadien X430, Y380 der Ausgangsfarbstoff, und welches das Photoprodukt ist, erfolgte im Laufe der Experimente, als sich die Argumente gegen ein Sehpigmentsystem mehrten; sie stellt eine Arbeitshypothese dar, die bisher weder endgültig bestätigt noch widerlegt werden konnte.

Den gefundenen Daten nach wäre SIII ein UV - Sehpigmentsystem mit einem Rhodopsin P380 und einem Metarhodopsin M430 mit dem Amplitudenverhältnis  $\alpha_M/\alpha_P = 5,0$ . Ein solch hoher Wert ist aber für das Verhältnis der maximalen Absorptionskoeffizienten von Sehpigmenten bisher unbekannt. Der höchste in der Literatur beschriebene findet sich bei Spodoptera exempta (Langer et al. 1979, vergl. Abb. 35, S. 51) mit 2,3 (P350, M470).

UV- Pigmente sind bei Insekten bereits sehr zahlreich nachgewiesen worden, meist mit einem Rhodopsin, das um 350 nm maximal absorbiert und einem Metarhodopsin mit  $\lambda_{max}$  zwischen 470 - 500 nm. Obwohl Ausnahmen bei den Rhodopsinabsorptionsmaxima bekannt sind (z.B. Heliconius numata: P390, siehe Abb. 35, S. 51), wurde eine solche für Metarhodopsin, in einem Bereich wie sie bei Ephestia kuehniella vorliegen würde (X430), bisher nicht gefunden. Die Maxima aller thermostabilen Metarhodopsine liegen nicht unter 460 nm.

Da das Pigmentsystem X430, Y380 nach den vorliegen-

den Ergebnissen in allen Ommatidien des Komplexauges der Mehlmotte gleichmäßig verteilt und in relativ hoher Konzentration vorliegt ( $CS_{III}/CS_I = 1,0$ ), hätten sich elektrophysiologische Befunde in Richtung auf eine Erhöhung der spektralen Empfindlichkeit im kurzwelligen Bereich des Spektrums ( $< 450\text{nm}$ ) ergeben müssen. Kotissek (1983) fand hier aber eine leichte Erniedrigung der relativen Empfindlichkeiten, die eher auf Beschattung durch ein nicht direkt an der Erregung beteiligtes Pigment deutet. Dabei ist nicht ausgeschlossen, daß Ephestia kuehniella eventuell über ein UV- Pigment um  $350\text{ nm}$  verfügt, es ließ sich aber anhand der gegebenen Möglichkeiten nicht nachweisen.

Für die Interpretation des Pigmentsystems X430, Y380 käme, da es nicht direkt am Sehvorhang beteiligt ist, ein dem Retinochrom der Cephalopoden vergleichbares in Frage. Tatsächlich weisen beide Systeme deutliche Ähnlichkeiten auf.

Als erstes wäre hierzu das Amplitudenverhältnis der maximalen Absorptionskoeffizienten von Photoprodukt und Ausgangsfarbstoff zu nennen, das für  $S_{II}$  0,2 und für Retinochrom 0,4 ist. Allerdings finden sich die Absorptionsmaxima im Bereich von ca.  $480 - 530\text{ nm}$  für Retinochrom; das Metaretinochrom zeigt einen Shift von ca.  $20 - 30\text{ nm}$  zu kürzeren Wellenlängen (Hara und Hara 1972, 1982). Dagegen zeigt  $S_{III}$  ein

Absorptionsmaximum bei 430 nm für das Stadium X und 380 nm für Y.

Retinochrom besitzt die gleiche chromophore Gruppe wie Rhodopsin, auch die maximalen molaren Absorptionskoeffizienten stimmen überein ( $40.000 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ , Sperling und Hubbard 1975). Eine Ausnahme ist Iodarodes pacificus, dessen  $\lambda_{\text{max}}$  des Retinochroms 1,5 x größer ist als das des Rhodopsins. Dieser Calmar zeigt dafür Übereinstimmung in den Mengen von Rhodopsin und Retinochrom, während bei Loligo palei die des Retinochroms nur etwa 25% der des Rhodopsins ausmacht (Sperling und Hubbard 1975, Hara und Hara 1976).

Im Retinochrom ist das Retinal ebenfalls über eine Schiffssche Base durch Kondensation der Aldehydgruppe mit einer  $\text{NH}_2$  - Gruppe einer Aminosäure an das Protein - wie in Rhodopsin - gebunden.

Die sekundären Interaktionen sind aber bedeutend schwächer als im Rhodopsin, denn durch UV- Bestrahlung wird Retinochrom schneller zerstört, und das Apoprotein des Retinochroms läßt sich im Gegensatz zu Opsin leichter mit verschiedenen Isomeren des Retinals kombinieren (Hara und Hara 1973).

Das Pigmentsystem SIII von Ephestia kuehniella wird aller Wahrscheinlichkeit nach in vivo nicht gebleicht, sondern ist interkonvertibel. Auffallend ist im Vergleich zu SII das relativ konstante Mengen-

verhältnis gegenüber SI. Während SII über die verschiedenen Augenregionen unregelmäßig verteilt vorliegt, konnte das Konzentrationsverhältnis für SIII in den Berechnungen zu den theoretischen Differenz- und Extinktionsänderungskurven in den meisten Fällen mit 1,0 angenommen werden. Eine Variation dieses Parameters bis 0,8 bewirkte nur kleine Änderungen im Verlauf, meist innerhalb der Standardabweichungen der Meßpunkte.

Als Pepe et al. (1980, 1982) bei der Biene ein wasserlösliches Chromoproteid nachwiesen, das nicht direkt am Sehprozess beteiligt ist und Retinal als Chromophor aufweist, mußte die Retinochrom - Hypothese erneut überdacht werden. Das bei der Biene gefundene Pigment absorbiert mit seinem Ausgangsfarbstoff maximal bei 440 nm, bei Belichtung wird es rekonvertibel in ein Photoprodukt mit  $\lambda_{\max} = 370 \text{ nm}$  überführt. Die prosthetische Gruppe liegt dann in der 11-cis-Konfiguration vor, während der Ausgangsfarbstoff all-trans-Retinal aufweist. Das Amplitudenverhältnis ihrer maximalen Absorptionskoeffizienten liegt im Bereich um 0,8.

Die gute Wasserlöslichkeit stellt, im Gegensatz zu den hydrophoben Sehpigmenten, eine Gemeinsamkeit mit den ebenfalls wasserlöslichen Transportproteinen für Retinol bei Wirbeltieren dar. Während das Retinol aber in dem Trägerprotein nur eingebettet ist ( $\lambda_{\max} = 330 \text{ nm}$ , Horwitz und Heller 1974), ist das Retinal

des Bienenpigments bei Sehpigmenten und Retinochrom über eine Schiffsbasis-Base gekoppelt. Darauf deutet auch die Verschiebung des Absorptionsmaximums zu 440 nm hin (Ball et al. 1949).

Das Molekulargewicht dieses Pigments ist deutlich geringer (27.000) als das von Insektenrhodopsinen (ca. 35.000, Paulsen und Schwemer 1973 für Ascalaphus macaronius). Bessere Übereinstimmung zeigt es hier mit dem Molekulargewicht des Retinochroms, das bei 24.000 liegt (Nashima et al. 1978). Bei den niedermolekularen Farbstoffen sind die Konfigurationen der prosthetischen Gruppen identisch.

Die gleichmäßige Verteilung über das gesamte Komplexauge und die relativ hohe Konzentration von SIII lassen eine Speicher- und eventuell eine Schutzfunktion in Erwägung ziehen. In den Augen zahlloser Wirbeltiere wurden Carotinoide nachgewiesen, die meist als Gemische in den Öltröpfchen (Vögel: Bowmaker 1980) der Retina zu finden sind (Zusammenfassung: Muntz 1972). Die Kombination der Absorptionsmaxima ergibt wirkungsvolle Kantenfilter (Kantenlage 320 - 440 nm). Neben einer eventuellen Kontrasterhöhung beim Farbsehen wird die Funktion dieser Pigmente vor allem als Schutz vor UV-Strahlung und Bildung von Sauerstoffradikalen (Delmelle 1979, Kirschfeld 1982) gesehen.



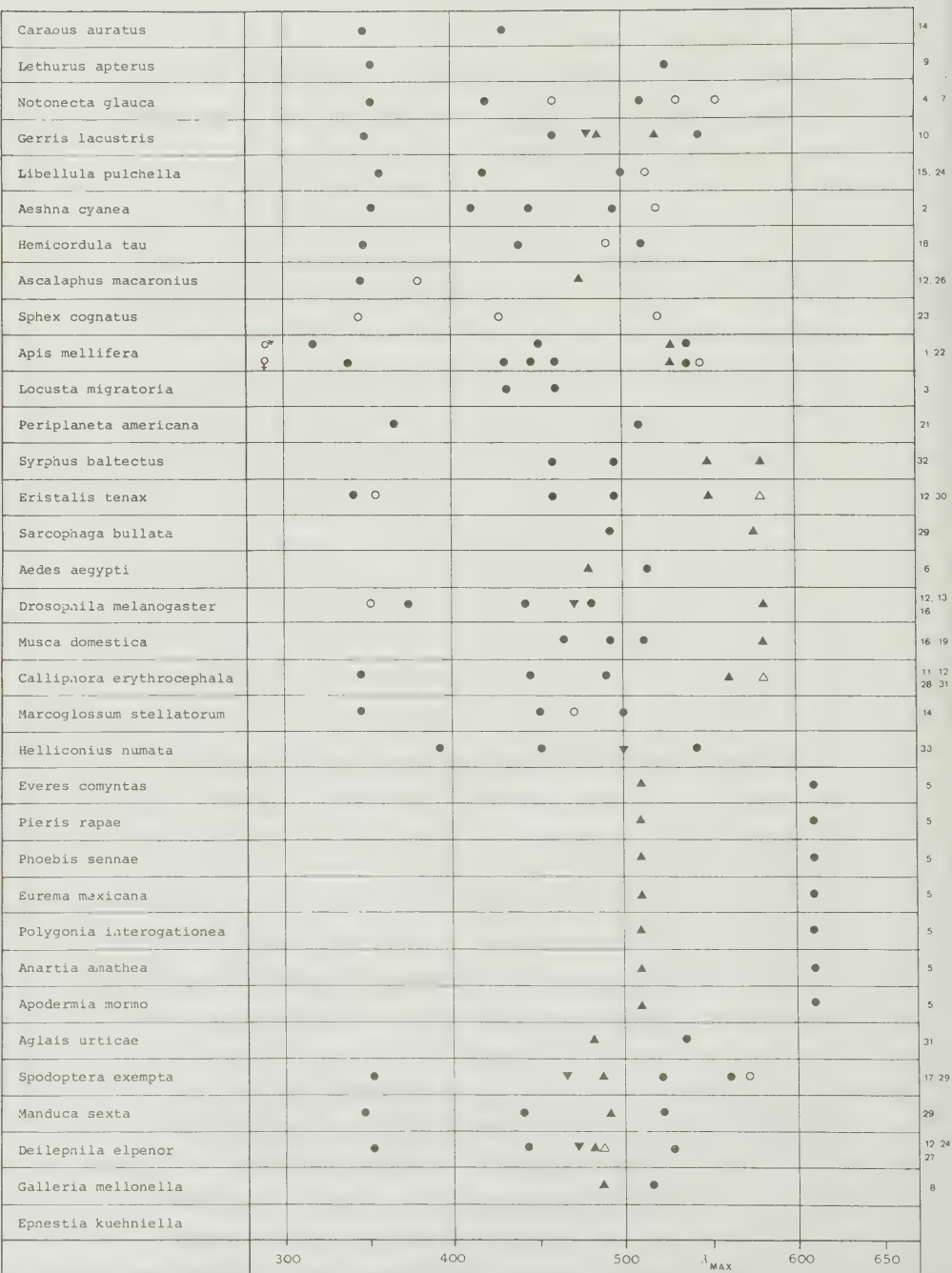


Abb. 35: Absorptionsmaxima von Insektensehpigmenten und ihren Photoprodukten.

Bedeutung der Symbole: ● Rhodopsin, O abweichende Angabe; ▲ Metarhodopsin; △ Metarhodopsin, abweichende Angabe; ▼ Metarhodopsin des UV-Pigments, falls  $\lambda_{\max}$  von dem der übrigen Metarhodopsine verschieden.

- |                            |                            |
|----------------------------|----------------------------|
| 1) Autrum, v. Zwehl 1964   | 17) Langer et al. 1979     |
| 2) Autrum, Kolb 1968       | 18) Laughlin 1975          |
| 3) Bennett et al. 1967     | 19) Marak et al. 1970      |
| 4) Bennett, Ruck 1970      | 20) Menzel 1979            |
| 5) Bernard 1979            | 21) Mote, Goldsmith 1971   |
| 6) Brown, White 1972       | 22) Muri 1978              |
| 7) Bruckmoser 1968         | 23) Ribí 1978              |
| 8) Goldmann, Barnes 1975   | 24) Ruck 1965              |
| 9) Goldsmith 1975          | 25) Schlecht 1979          |
| 10) Gribakin 1981          | 26) Schwemer et al. 1971   |
| 11) Hamann, Langer 1980    | 27) Schwemer, Paulsen 1973 |
| 12) Hamdorf et al. 1973    | 28) Schwemer 1979          |
| 13) Hamdorf 1979           | 29) Schwemer, Langer 1982  |
| 14) Harris et al. 1976     | 30) Stavenga 1976          |
| 15) Hasselmann 1962        | 31) Stavenga 1975          |
| 16) Horridge 1969          | 32) Stavenga 1979          |
| 17) Kirschfeld et al. 1977 | 33) Struwe 1972            |

Auch bei Insekten wurden solche Pigmente beschrieben (z.B. Musca: Kirschfeld et al. 1978) mit einer eventuellen Nebenfunktion als Antennenpigmente für die Sehfarbstoffe (Minke und Kirschfeld 1979). Soweit bekannt, sind alle diese Pigmente photostabil. Untersuchungen an Ephestia kuehniella über Farbstoffe, die neben Sehpigmenten und Ommochromen im Auge enthalten sind, ergaben nur ein rotes Pigment, einen Pterinabkömmling, mit ebenfalls unklarer Funktion (Kühn und Egelhaaf 1969).

Eine eindeutige Entscheidung über die Funktion des Pigmentsystems SIII kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht getroffen werden.

In der Ausstattung mit Sehpigmenten zeigen die Augen von Ephestia kuehniella dagegen Übereinstimmung mit denen zahlreicher anderer Insekten, wie in Abb. 35 aufgeführt.

Die meisten untersuchten Arten weisen zwei Pigmentsysteme auf, viele sogar drei. Diese sind dann einem Grün-, einem Blau- und eventuell einem UV-Rezeptor zuzuordnen. Bei 7 Lepidopteren Arten finden sich außerdem Rot-Rezeptoren. In diesem Zusammenhang muß betont werden, daß diese Falter mit Sicherheit zusätzlich noch mindestens einen grünabsorbierenden Farbstoff besitzen (Bernard 1979); genauere Angaben darüber wurden aber nicht gefunden.

Equchi et al. (1982) untersuchten 35 Lepidopterenarten aus 14 Familien auf die spektrale Lage ihrer Empfindlichkeitsmaxima: alle Arten weisen drei oder vier Maxima in ihren Empfindlichkeitskurven auf. Zwei davon wurden einem UV- und einem Blaurezeptor ( $\lambda_{\text{max}} = 380$  und  $460$  nm) zugeordnet. Die weiteren Maxima befanden sich im Bereich von  $500 - 620$  nm und sind auf Grün- und Rotrezeptoren zurückzuführen. Für dämmerungsaktive Sphingiden ist ein ausgeprägtes Empfindlichkeitsmaximum im Bereich um  $540$  nm typisch, das die Identifizierung weiterer Maxima erschwert. Es gibt aber Hinweise, daß - wie bei anderen dämmerungsaktiven Faltern - auch hier drei bis vier Rezeptortypen vorliegen können. Bei einer besonders gut untersuchten Art trifft dies zu: Deilephila elpenor besitzt ein Triple-Rezeptorsystem. Die Identifizierung der Empfindlichkeitsmaxima bei  $350$ ,  $440$  und  $525$  nm gelang durch selektive Adaptation (Höglund und Struwe 1970, Höglund et al. 1973). Microphotometrie bestätigte die elektrophysiologischen Ergebnisse durch den Nachweis von drei Rhodopsinen mit den Absorptionsmaxima bei den Wellenlängen maximaler Empfindlichkeit. Die zugehörigen Metarhodopsine absorbieren maximal zwischen  $470$  und  $480$  nm (Hamdorf et al. 1971). Zuletzt gelang es Schlecht et al. (1978) durch Microphotometrie von achsenparallelen Schnitten und Welsch (1977) mit der Elektronenmikroskopie die genaue Topografie der einzelnen Farb-

rezeptoren im Ommatidium zu beschreiben: der distale Teil der Rhabdome wird gebildet aus zwei UV- Rezeptoren, der mittlere aus vier Grün-Rezeptoren und der proximale aus einer einzigen großen Sinneszelle, dem Blau-Violett-Rezeptor.

Bei einer anderen Sphingide, Manduca sexta, wurde eine sehr ähnliche Pigmentkombination gefunden; hier handelt es sich um die Rhodopsine P350, P450 und P530 mit M480 (Hamdorf 1979).

Ob Ephestia kuehniella mit ihren (bis jetzt identifizierten) zwei Sehpigmentsystemen tatsächlich Farben unterscheiden kann, dürfte letztlich nur mit Verhaltensexperimenten zu klären sein. Bei der Biene haben solche lange vor photometrischen und elektrophysiologischen Studien gezeigt, daß das Farbunterscheidungsvermögen entscheidend ist für die Wahl der Blüten bei der Nahrungssuche (v. Frisch 1914). Mittlerweile wurde das für diese Fähigkeit der Biene nötige Rezeptorsystem zahlreiche Male bestätigt, sowohl über Elektrophysiologie an der Retina (Autrum und v. Zwehl 1964) und durch Veränderungen der Rezeptoren bei monochromatischer Bestrahlung (Menzel und Blakers 1976), als auch bei Beobachtungen des ganzen Tieres (v. Helversen 1972).

Weiterhin zeigte sich, daß auch andere Blütenbesucher unter den Hymenopteren und Lepidopteren über mehrere Typen von Rezeptoren verfügen, die den Farben der Blüten aus dem violett- blauen und UV- Be-

reich angepaßt sind. Besondere Merkmale an Blüten wie z.B. nektartragende Blütenteile oder Saftmale werden oft über eine hohe UV-Absorption betont (Menzel 1979).

Normalerweise unterscheidet sich das reflektierte Licht bestrahlter Objekte von dem der Strahlungsquelle. Licht, das direkt von der Sonne oder dem Mond durch die Atmosphäre dringt, ist charakterisiert durch einen relativ hohen Violett-Anteil, während das von natürlichen Objekten (Blätter, Erde) reflektierte kein UV enthält, sondern vor allem Grün und Gelb (Zusammenfassung: Menzel 1979). Die Mehlmotte ist im Laufe der Evolution zu einem Kulturfolger des Menschen geworden und vor allem in dem 'unnatürlichen' Lebensraum innerhalb von Mühlen und Bäckereien häufig. 'Wildfunde' sind nicht bekannt. Man weiß nur, daß sie aus dem mediterranen Raum stammt. An dem gut ausgebildeten Saugapparat der rezenten Form ist aber noch zu erkennen, daß ihre Vorfahren Nektarsauger gewesen sein dürften. Als Anpassung an ihren jetzigen Lebensraum ist die Reduzierung des Ösophagus zu sehen. Ohne Nahrungsaufnahme leben die Imagines nur durchschnittlich 2 Wochen und ausschließlich im Dienste der Fortpflanzung. Eine biologische Notwendigkeit eines Farbumscheidungsvermögens ist daher nicht mehr gegeben und diese Fähigkeit muß eher als ein Relikt angesehen werden.

Farbensehen ist im Gegensatz zur spektralen Empfindlichkeit definiert als die Fähigkeit, Unterschiede in der spektralen Zusammensetzung von Lichtreizen, unabhängig von ihrer Intensität, zu perzipieren (Menzel 1979). Diese Fähigkeit ist abhängig von der Anzahl und der Art der Farbrezeptoren sowie der neuronalen Verarbeitung. Für eine Farbumterscheidung sind mindestens zwei unterschiedliche Sehfarbstoffe nötig, die in verschiedenen Sinneszellen vorliegen müssen. Ein dichromatisches Unterscheidungsvermögen könnte bei der Mehlmotte zumindest im dorso-cranialen Augenbereich (vergl. Abb. 13 und 14), wo Blau- und Grünrezeptoren nachgewiesen wurden, vorliegen. Dies könnte eine Anpassung an bestimmte Biotopgegebenheiten darstellen.

Bei Männchen der Stubenfliege Musca domestica fanden Franceschini et al. (1981), daß das Komplexauge in der dorso-cranialen Region 'farbenblind' ist, während der Rest der Ommatidien ein hochentwickeltes trichromatisches System aufweist. Es konnte nachgewiesen werden, daß dieser scheinbare Nachteil für bestimmte Sexualverhaltensmuster sehr vorteilhaft ist: die Männchen verfolgen fliegend die Weibchen, wobei diese mit der 'Fovea', die im dorsalen-cranialen, 'farbenblinden' Bereich liegt, fixiert werden. Ein gesteigertes räumliches und zeitliches Auflösungsvermögen in dieser Region wurde auf Kosten des

Farbensehens entwickelt.

Da die Kommunikation bei Ephestia kuehniella zwischen den Geschlechtern wahrscheinlich mit Pheromonen als Signale erfolgt, steht die beschriebene Augenregion wohl im Dienste der Raumorientierung. Ähnliches wurde bei Ascalaphus macaronius beschrieben. Dieser Schmetterlingshaft ist nur bei Sonnenschein aktiv. Sein Komplexauge unterteilt sich in das 'frontale Auge', das nur UV-empfindlich ist, und das 'laterale Auge', das Blau- und Grünrezeptoren enthält. Man interpretiert diese Eigenart als perfekte Anpassung an die Lichtverhältnisse des mediterranen Biotops (Zusammenfassung: Hamdorf 1979): Sonnenlicht zeigt zwei Maxima in seiner spektralen Verteilung: eines im UV-Bereich und eines im blauen Spektralbereich. Der hohe Blauanteil wird durch das M475 des Schmetterlingshaftes absorbiert, das dadurch zu P345 revertiert. Unter natürlichen Bedingungen wird auf diese Weise ein Photogleichgewicht bei einer Rhodopsinfraktion von 0,9 eingestellt. Diese führt bereits zu maximaler Empfindlichkeit des UV-Rezeptors. Wird experimentell das photochemische Gleichgewicht vollkommen auf die Seite des Rhodopsins verschoben ( $f_p = 1,0$ ), so sinkt die Empfindlichkeit wieder auf Grund von Eigenbeschattung des Sehfärbstoffs.

Bei Ephestia kuehniella dürfte der Grünrezeptor gleichermaßen in allen Ommatidien des Komplexauges

enthalten sein, wie an der Größe der Extinktionsänderungen zu erkennen ist. Der Blaurezeptor dagegen liegt nur im dorso-cranialen Quadranten in annähernd großer Konzentration vor, wie SI ( $CSII/CSI = 0,6-0,9$ ), im ventro-caudalen dagegen in wesentlich geringerer (maximal  $0,30$ ). Die über die gesamte Augenfläche integrierenden Reflexionsmessungen ergaben durchschnittliche Konzentrationsverhältnisse von  $SII/SI$  um  $0,2$ . Die Schwankungen dieser Verhältnisse bei Messungen an verschiedenen Versuchstieren im Größenordnungsbereich von  $0,05$  bis  $0,35$  ist möglicherweise auf individuelle Abweichungen in der Sehpigmentausrüstung der Tiere oder auf eine etwas unterschiedliche Lage des Komplexauges im Meßfeld zurückzuführen.

## 6. Ergebnisse: Dunkelregeneration

### 6.1. Dunkelregeneration im Sehpigmentsystem I

#### 6.1.1. Zunahme der Rhodopsinfraktion in Abhängigkeit von der Dunkelzeit.

Ephestia kuehniella zeigt, nachdem sie mehrere Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkel gehalten wurde, bei darauffolgender monochromatischer Bestrahlung Reflexionsänderungen, auch dann, wenn Adaptations- und Testwellenlänge identisch sind. Besonders deutlich sind diese Änderungen, wenn vor der Dunkelzeit ( $t_D$ ) ein Photogleichgewicht mit einer hohen Metarhodopsinfraktion für SI eingestellt worden war (Vergl. Abb. 2). Da in den folgenden Versuchen eine Beeinflussung durch SII ausgeschlossen werden sollte, erwies sich die Belichtung bei 570 nm vor der Dunkelzeit ( $\lambda_{AD}$ ) und als Testbelichtung nach dieser ( $\lambda_{TD}$ ) besonders vorteilhaft. Bei einem  $\alpha_P = 0,63$  und einem  $\alpha_M = 0,37$  stellt sich in ca. 10 min Belichtung ( $\lambda = 570$  nm) eine Metarhodopsinfraktion von 0,85 ein. Aus den nach der Dunkelzeit bestimmten Extinktionsänderungen (Gl. 1) können die Rhodopsinfraktionen ermittelt werden (Gl. 12). Hierfür wurde Photokonversion nach Vorbelichtung mit der Referenzwellenlänge  $\lambda_{ref} = 450$  nm bei der Versuchswellenlänge 570 nm gemessen. Um zeitabhängige Faktoren in den Versuchsreihen (wie zum Beispiel Alterungseffekte) zu eliminieren, wurde nach jeder Testbelichtung ( $\lambda_{TD} = 570$

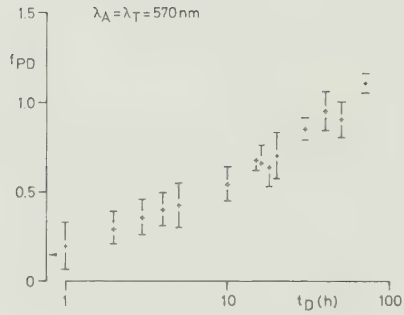


Abb. 19: Rhodopsinfraktion nach Dunkelzeit ( $f_{PD}$ ) in Abhängigkeit von deren Dauer ( $t_D$ ). Adaptationswellenlänge vor und Testwellenlänge nach Dunkelzeit war 570 nm. Der Pfeil bezeichnet die Ausgangsrhodopsinfraktion zu Beginn der Dunkelzeit. Mittelwerte aus 9 Versuchsreihen an 9 Tieren.

nm) diese 'Standardmessung' durchgeführt.

Für die Wahl der Referenzwellenlänge  $\lambda_{\text{ref}} = 450 \text{ nm}$  war ausschlaggebend, daß im Anschluß daran nahezu vollständige Photokonversion bei Belichtung mit 570 nm erwartet werden kann und damit große, gut auswertbare Reflexionsänderungen.

Bei Zimmertemperatur zeigen auch bei der weißäugigen Mehlmotte die zeitlichen Reflexionskurven immer Störungen und Schwankungen, die - nur tendenziell reproduzierbar - nicht alleine durch Absorptionsänderungen in den Sehpigmentsystemen zu erklären sind (Pigler 1979). Da aber bei dauernder Kühlung auf Temperaturen, die diese Störfaktoren ausschalten, auch nach sehr langen Dunkelzeiten keine meßbare Extinktionsänderung festgestellt werden konnte, wurde eine Methode entwickelt, mit deren Hilfe störungsfreie Photokonversionsmessungen ermöglicht wurden, Dunkelregeneration aber trotzdem stattfand: alternierende Temperierung des Versuchstieres auf  $0^{\circ}\text{C}$  während der Messung und auf  $22^{\circ}\text{C}$  in den Dunkelphasen. Der vollständige, überwachte Temperaturwechsel erfolgte in 20 min.

Die Abb. 19 zeigt, daß die Rhodopsinfraktion mit zunehmender Dunkelzeit ansteigt, wobei die Fraktionszunahme in etwa linear mit dem Logarithmus der Dunkelzeit korreliert ist. Nach 70 h findet sich im Grünrezeptor der Mehlmotte nur noch ausschließlich Rhodopsin ( $f_{\text{PD}} = 1,0$ ; Ausgangsfraktion 0,15).

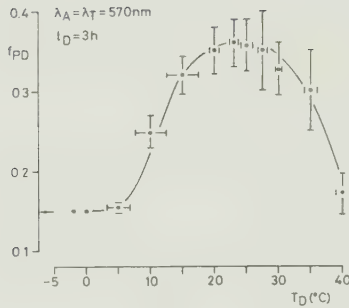


Abb. 20: Rhodopsinfraktion nach konstanter Dunkelzeit ( $t_D = 3\text{ h}$ ) in Abhängigkeit von der Regenerationstemperatur  $T_D$ . Mittelwerte aus drei Meßreihen an 3 Versuchstieren.

Die waagrechten Standardabweichungen erklären sich durch schlechte Reproduzierbarkeit der Temperaturen im Tierkörper. Der Pfeil kennzeichnet die Rhodopsinfraktion zu Beginn der Dunkelzeit.

### 6.1.2. Zunahme der Rhodopsinfraktion in Abhängigkeit von der Regenerationstemperatur

Wenn die gemessene Zunahme an Rhodopsin einem Dunkelregenerationsprozess im Sinne der in der Einleitung erwähnten drei Möglichkeiten zugeschrieben werden soll, muß sie vor allem durch die Temperatur in den Dunkelphasen beeinflussbar sein. Zur Untersuchung dieser Frage wurde die Regenerationstemperatur ( $T_D$ ) variiert, während die Dunkelzeiten ( $t_D$ ) gleichbleibend 3 h betrugen.

Um die exakte, im Komplexauge des Versuchstieres herrschende Temperatur, zu bestimmen, wurden speziell gefertigte Thermoelemente in den Hämolympхраum des Kopfes eingestochen, direkt am hinteren Augenrand.

Zunächst wurde bei  $\lambda_{AD} = 570 \text{ nm}$  das Photogleichgewicht vor der Dunkelzeit mit niedrigem  $f_p$  eingestellt, nach  $t_D = 3 \text{ h}$  wurde bei der gleichen Wellenlänge die Extinktionsänderung ( $\lambda_{AD} = \lambda_{TD}$ ) gemessen. Die aus diesen und der 'Standardmessung' berechneten Rhodopsinfraktionen  $f_{pD}$  ergeben in Abhängigkeit von der Regenerationstemperatur eine Optimumskurve (Abb. 20). Das Maximum von  $f_{pD} = 0,35$  liegt bei  $23^\circ\text{C}$ ; zwischen  $8^\circ\text{C}$  und  $18^\circ\text{C}$  ergibt sich ein  $Q_{10}$  von 1,91 und deutet damit eine stoffwechselgebundene Reaktion an. Erwärmung der Motte auf über  $23^\circ\text{C}$  bewirkt eine Abnahme der Regeneration, bei  $40^\circ\text{C}$  kommt der

Dunkelprozess völlig zum Erliegen. Solch hohe Versuchstemperaturen wirkten außerdem verkürzend auf die Lebensdauer; diese Versuche überlebten die meisten Tiere nicht. Hier könnten bereits Denaturierungserscheinungen bei den Körperproteinen eine Rolle spielen. Der Aufenthalt bei Temperaturen unter  $0^{\circ}\text{C}$  wird dagegen ohne Schädigung der Lebensfunktionen ertragen; Versuchstemperaturen um  $0^{\circ}\text{C}$  bewirken eine 'Konservierung' des Versuchstieres durch erhöhte Lebensdauer. Eine Dunkelregeneration wird durch diese tiefen Temperaturen vollständig unterbunden; erst ab  $5^{\circ}\text{C}$  konnten minimale Fraktionszunahmen für Rhodopsin beobachtet werden.



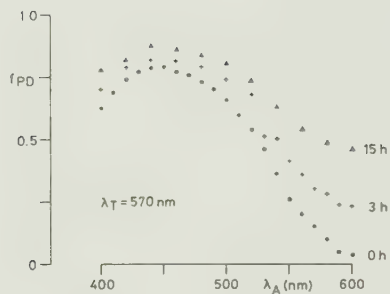


Abb. 21: Wellenlängenabhängige Rhodopsinfraktion von SI nach Einstellung des Photo Gleichgewichts ( $t_D = 0$  h) und zusätzlich nach 3 h und 15 h Dunkelzeit.. Testwellenlänge war 570 nm.

Die Werte wurden berechnet aus den Mittelwerten von 4 Meßreihen an 4 Versuchstieren. Gemessen wurde etwa in der Mitte des Auges.

### 6.1.3. Rhodopsinfraktionszunahme in Abhängigkeit von der Metarhodopsinfraktion

Nachdem die Dunkelregeneration deutliche Temperaturabhängigkeit gezeigt hat, war es naheliegend, als weiteren Versuchsparameter die Ausgangsfraktion an Metarhodopsin zu Beginn der Dunkelphase zu variieren. Geht man davon aus, daß dieses das 'Substrat' der Dunkelprozesse darstellt, müßte eine geringere Ausgangsmenge auch eine Reduzierung der Produktmenge nach sich ziehen, also eine niedrigere Rhodopsinfraktion  $f_{PD}$ .

In Abwandlung zu den bisherigen Versuchen wurde in den Experimenten für die in Abb. 21 dargestellten Ergebnisse durch saturierende Belichtung mit variablen Vorbelichtungswellenlängen  $\lambda_{AD}$  vor der Dunkelzeit unterschiedliche Metarhodopsinfraktionen eingestellt. Die Fraktionen von M490 des SI nehmen zu kürzeren Wellenlängen hin ab, um bei 440 nm minimal vorzuliegen (vergl. Abb. 2).

In Abb. 21 stellt die Kurve mit dem Parameter  $t_D = 0$  h die relativen Rhodopsinkonzentrationen dar, wie sie sich aus Extinktionsänderungsmessungen nach Einstellung des Photogleichgewichts bei  $\lambda_A$  ohne Dunkelzeit errechnen (Gl. 12).

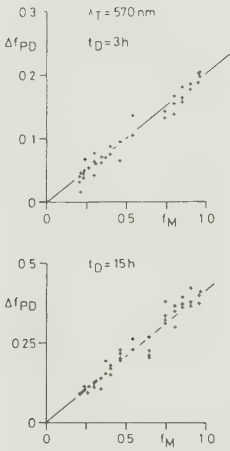


Abb. 22: Nettorhodopsin-  
zunahme ( $\Delta f_{PD}$ ) aufgetra-  
gen gegen die vor Beginn  
der Dunkelzeit  
( $t_D = 3 \text{ h}$ , oben;  
 $t_D = 5 \text{ h}$ , unten) über  $\lambda_A$   
eingestellte Metarhodop-  
sinfraktion ( $f_M$ ). Gera-  
de: berechnete Funktion  
für lineare Regression.

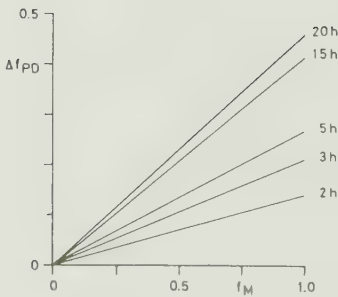


Abb. 23: Berechnete Re-  
gressionsgeraden aus  
Abb. 23 und für  
 $t_D = 2 \text{ h}$ ,  $5 \text{ h}$  und  $20 \text{ h}$   
aus Messungen entspre-  
chend Abb. 22.  
Korrelationskoeffizienten  
 $r_{2h} = 0,955$   
 $r_{5h} = 0,984$   
 $r_{20h} = 0,964$

Die Parameter an den beiden anderen Kurven geben die Dunkelzeiten zwischen den Bestrahlungen bei  $\lambda_{AD}$  und  $\lambda_{TD}$  an. Aufgetragen ist die Rhodopsinfraktion nach Dunkelzeit in Abhängigkeit von der Vorbelichtungswellenlänge  $\lambda_{AD}$  ( $\lambda_{ref} = 450 \text{ nm}$ ).

Obwohl davon ausgegangen werden mußte, daß auch das Rhodopsin des Pigmentsystems SII im Dunklen regeneriert, sollte auf Grund der Lage der Testwellenlänge ( $\lambda_{TD} = 570 \text{ nm}$ ) SII keinen Einfluß auf die Meßwerte haben, da bei 570 nm dessen Metarhodopsin nur noch minimal absorbiert (vergl. Abb. 3). Zudem wurde im mittleren Augenbereich gemessen, wo SII nur in relativ geringer Konzentration vorgelegen haben dürfte. Die Fraktionswerte  $f_{PD}$  zeigen deutlich, daß sowohl nach 15 h als auch schon nach 3 h Rhodopsin in erhöhter Konzentration vorliegt (Abb. 21). Bemerkenswert ist die wellenlängenabhängige Fraktionserhöhung: beide Kurven zeigen eine deutliche, nach  $t_D = 15 \text{ h}$  verstärkte Abflachung der Flanke bei größeren Wellenlängen. Dies bedeutet, daß bei diesen Wellenlängen, wo eine höhere Metarhodopsinfraktion eingestellt worden war, eine stärkere Rhodopsinzunahme bewirkt wurde. Klarer wird dieser Effekt, so die Nettofraktionszunahme  $\Delta f_{PD}$  des Rhodopsins gegen die Metarhodopsinfraktion vor der Dunkelzeit ( $f_M$ ) aufgetragen wird (Abb. 22). Die Linearitätsbeziehung wird gestützt durch die berechneten Regressionsgeraden mit den Korrelationskoeffi-

zienten  $r = 0,985$  für  $t_D = 3$  h und  $r = 0,979$  für  $t_D = 15$  h.

Die gleichen Versuche wurden auch noch für die Dunkelzeiten  $t_D = 2$  h, 5 h und 20 h durchgeführt. Auf die Einzeldarstellung wird hier verzichtet; die resultierenden Regressionsgeraden aber sind in Abb. 23 zusammengefaßt. Auffällig ist an dieser Schar von Geraden durch den Ursprung, daß ihre Steilheit nicht linear mit der Dunkelzeit korreliert zu sein scheint, sondern offensichtlich einem Grenzwert zustrebt.

## 6.2. ERG - Messungen zur Dunkelregeneration

Nachdem die Dunkelregeneration von Rhodopsin (Abschnitt 6.1.) gesichert war, interessierte, ob sich mit elektrophysiologischen Methoden eine Bestätigung dieser Ergebnisse erzielen lassen würde. Gekoppelte Bestimmungen von Photokonversion und Empfindlichkeit nach variablen Dunkelzeiten sollten zeigen, ob eine Zunahme der Rhodopsinfraktion im Dunklen auch zu einer Steigerung der Empfindlichkeit des Rezeptors führt, nachdem Kotissek (1978, 1983) bereits in Elektroretinogramm - Ableitungen direkte Proportionalität zwischen Empfindlichkeit und relativer Rhodopsinkonzentration (P530) nachgewiesen hatte.

Da der Versuchsablauf weitgehend dem aus Kapitel 6.1.1. folgen sollte, mußten zuerst die versuchsspezifischen Einflüsse auf das ERG überprüft werden.

Nach Abschalten eines Adaptationslichtes steigt die ERG-Amplitude im Verlauf der durch Membraneigenschaften bedingten Dunkeladaptation exponentiell an und erreicht nach ca. 10 min bei Zimmertemperatur einen konstanten Wert. Eine Erniedrigung der Versuchstemperatur äußert sich in der Verlangsamung dieses Prozesses.

Da stets auf einen konstanten Adaptationszustand geachtet werden mußte, der exakte Adaptationsverlauf (abhängig von der zuvor eingestrahlten Quantenstromdichte und der aktuellen Versuchstemperatur) aber

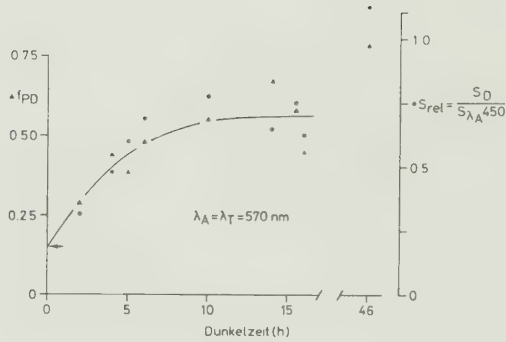


Abb. 24: Rhodopsinfraktion ( $f_{PD}$ ) und relative Empfindlichkeiten ( $S_{rel}$ ) in Abhängigkeit von der Dunkelzeit.

Der Empfindlichkeitswert, der sich aus den ERG nach Dunkelzeit errechnete ( $S_D$ ), wurde auf den nach sättigender Vorbelichtung mit 450 nm ( $S_{\lambda A 450}$ ) normiert. Testwellenlänge war 570 nm, ebenso Adaptationswellenlänge vor Dunkelzeit.

Der Pfeil kennzeichnet die Rhodopsinfraktion zu Beginn der Dunkelzeit.

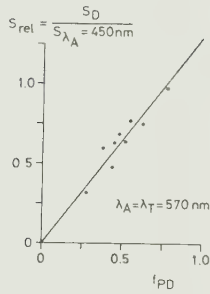


Abb. 25: relative Empfindlichkeit und Rhodopsinfraktion (Werte aus Abb. 24) ergeben proportionale Beziehung (Berechnete Regressionsgerade,  $r = 0,966$ ).

kaum vorhersagbar war, wurde dieser stets über frequente Reize monochromatischer Testlichter verfolgt. Nach Einstellung einer geringen Rhodopsinfraktion ( $\lambda_{AD} = 570 \text{ nm}$ ) vor der Dunkelzeit folgten frequente Testreize ( $\lambda_T = 570 \text{ nm}$ ), die nach etwa 2 Stunden bei  $0^\circ\text{C}$  die Beendigung der Empfindlichkeitszunahme im Dunklen signalisierten. Erst dann wurde mit dem eigentlichen Experiment zur Dunkelregeneration begonnen und die Regenerationstemperatur von  $22^\circ\text{C}$  eingestellt.

War die Dunkelzeit ( $t_D = \text{var.}$ ) beendet und das Versuchstier wieder auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt, wurde über drei Testreize mit  $\lambda_T = 570 \text{ nm}$  die ERG-Amplitude bestimmt und anschließend durch die Photokonversionsmethode die Rhodopsinfraktion ermittelt.

Die Referenzwellenlänge hierfür war wieder  $\lambda_{\text{ref}} = 450 \text{ nm}$ . Die gleiche Wellenlänge wurde auch zur Normierung der aus den ERG-Werten über täglich neu gemessene Kennlinien ( $\lambda_A = \lambda_T = 570 \text{ nm}$ ,  $T = 0^\circ\text{C}$ ) berechneten Empfindlichkeiten herangezogen. Die ERG-Amplitude der Testwellenlänge  $\lambda_T = 570 \text{ nm}$  wurde nach abgeschlossener Dunkeladaptation, die mit Hilfe von Testreizen bei  $450 \text{ nm}$  kontrolliert wurde, gemessen.

Die resultierende Rhodopsinfraktion und die relativen Empfindlichkeitswerte sind in Abb. 24 gegen die Dunkelzeit  $t_D$  aufgetragen. Wie erwartet, bewirkt eine

Verlängerung der Dunkelphasen eine Zunahme der Empfindlichkeit, die in ihrem Verlauf der steigenden Rhodopsinfraktion in etwa korreliert ist. Die Proportionalität zwischen Empfindlichkeit und Rhodopsinfraktion, die durch unterschiedlich lange Dunkelzeiten eingestellt wurde, zeigt Abb. 25.

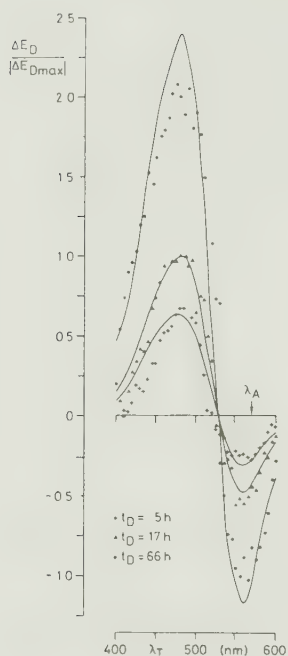


Abb. 26: Differenzkurven aus Reflexionsspektren mit 5 h, 17 h, und 66 h Dunkelzeit, Adaptationswellenlänge war immer 570 nm. Normierung erfolgte auf die maximale Änderung nach  $t_D = 17\text{ h}$ .

Durchgezogene Kurve: theoretisch berechnetes Differenzspektrum unter Annahme eines Rhodopsinaufbaues der direkt abhängt von der abgebauten Menge an Metarhodopsin.

Typische Meßkurve am Beispiel eines Tieres.

### 6.3. Differenzspektren zur Dunkelregeneration

Die bereits zur Charakterisierung der Sehpigment-systeme angewandte Methode der Kurzzeitregistrierung von Reflexionsspektren fand auch bei Versuchen zur Dunkelregeneration Anwendung. Da Differenzspektren nur Veränderungen zwischen zwei Situationen aufzeigen, sollte untersucht werden, ob im Dunklen tatsächlich die vorhandene Menge an Metarhodopsin abnimmt und Rhodopsin neu entsteht, bzw. in welchem Verhältnis die beiden Prozesse zueinander stehen.

Dazu wurde von einem festeingestellten Photogleichgewicht ausgegangen ( $\lambda_{AD} = 570 \text{ nm}$ ), anschließend Dunkelzeiten variabler Dauer bei  $22^{\circ}\text{C}$  abgewartet, und nach deren Beendigung (nach Abkühlung auf  $0^{\circ}\text{C}$ ) ein Reflexionsspektrum aufgezeichnet. Sofort im Anschluß daran wurde ein zweites Spektrum registriert, mit identischer Vorbelichtung ( $\lambda_A = 570 \text{ nm}$ ), aber ohne Dunkelpause ( $t_D = 0 \text{ h}$ ). Aus diesen beiden Einzelregistrierungen konnte nun direkt das Differenzspektrum der Dunkelprozesse errechnet werden (Gl. 13).

Um das resultierende Spektrum interpretieren zu können, mußte das Computerprogramm leicht abgeändert werden (Programm III), damit für die zweite (hier identische) Adaptationswellenlänge die Fraktionen der Sehpigmentstadien in Anlehnung an die Ergebnisse aus Abb. 23 gezielt verändert werden konnten.

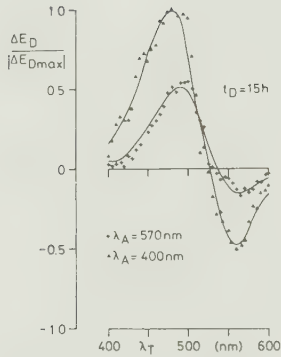


Abb. 27: Differenzkurven aus Reflexionsspektren mit verschiedenen Adaptationswellenlängen (570 nm und 400 nm) und konstanter Dunkelzeit ( $t_D = 15$  h). Normierung erfolgte auf die maximale Änderung nach  $\lambda_A = 570$  nm.

Durchgezogene Kurve: theoretisches Differenzspektrum berechnet unter der Annahme gleicher Dunkelregenerationsraten für SI und SII.

Beide Meßkurven stammen von einer Motte.

In Abb. 26 sind die Ergebnisse aus drei Versuchsreihen dargestellt, mit jeweils unterschiedlichen Dunkelzeiten (5, 17 und 66 h), aber gleichen Adaptationswellenlängen ( $\lambda_{AD} = \lambda_A = 570 \text{ nm}$ ). Normierung erfolgte auf den Maximalwert ( $\Delta E_{D \text{ max}}$ ) des Differenzspektrums nach 17 h Dunkelheit. Die theoretischen Kurven wurden berechnet unter der Annahme eines Gleichgewichts des Ab- und Aufbaues von Metarhodopsin und Rhodopsin.

Bei der theoretischen Berechnung für  $t_D = 66 \text{ h}$  wurde die Annahme zugrunde gelegt, daß sich nach dieser langen Dunkelzeit bereits eine Umwandlung von Metarhodopsin zu Rhodopsin mit  $f_{PD} = 1,0$  zeigen sollte (Abb. 19). Da die Meßpunkte nicht die Extremwerte der theoretischen Kurve erreichen, scheint die Regeneration bei diesem Versuchstier noch nicht vollständig abgeschlossen gewesen zu sein (Abb. 26).

Im zweiten Teil der Experimente wurde die Dunkelzeit konstant gehalten ( $t_D = 15 \text{ h}$ ), als Vorbelichtungs- wellenlänge aber  $\lambda_A = 400 \text{ nm}$  gewählt. Das Photogleichgewicht des SI wird damit weit auf die Seite des Rhodopsins verschoben ( $f_{PI} = 0,65$ , vergl. Abb. 2), für SII ist  $f_{PII} = 0,38$  (vergl. Abb. 3). Eine eventuelle Dunkelregeneration des SII könnte damit in etwa zum doppelten Betrag von  $f_{PD}$  führen, vorausgesetzt, eine Regeneration des SII- Rhodopsins folge derselben Kinetik wie sie für SI gefunden

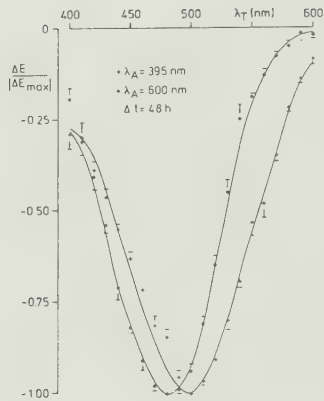


Abb. 28: Altersbedingter Verlust an Pigment. Differenzkurven aus Reflexionsspektren mit einer Zeitdifferenz  $t = 48$  h für zwei Adaptationswellenlängen (395 nm und 600 nm), jeweils normiert auf den Maximalwert. Durchgezogene Kurven: theoretisch berechnete Differenzspektren einer, alle Pigmentsysteme gleichermaßen betreffenden Mengenabnahme. Die Meßpunkte sind Mittelwerte von 8 Versuchstieren.

wurde (vergl. 21 - 23). Die beste Anpassung der experimentellen Daten an eine theoretische Kurve erfolgt, wenn man für SII die gleiche Abhängigkeit von  $\Delta f_{PD}$  zur Metarhodopsinausgangsfraction  $f_M$  annimmt (Abb. 27). Das Konzentrationsverhältnis (CSII/CSI) der beiden Systeme wurde hierbei auf 0,3 festgelegt. Damit ist gesichert, daß sowohl bei SI als auch bei SII Metarhodopsin im Dunkeln abgebaut und Rhodopsin im gleichen Maße regeneriert wird. Diese Prozesse laufen für beide Sehpigmentsysteme nach den gleichen Gesetzmäßigkeiten ab.

Die erhofften Hinweise auf eine Beteiligung des Pigmentsystem SIII konnte nicht gefunden werden. Die von der Absorptionscharakteristik her starke Ähnlichkeit mit einem Retinochromsystem (Hara und Hara 1982) fand keine weitere Bestätigung, da SIII während der Dunkelphasen offenbar keiner Veränderung seines Photogleichgewichts unterworfen ist.

Da im Zusammenhang mit der Dunkelregeneration von Interesse ist, ob die im Mehlmottenauge enthaltene Gesamtpigmentmenge über die Lebenszeit des Tieres hin konstant bleibt, oder ob sie in der Dunkelzeit zunimmt (Neusynthese), wurden die Meßreihen für die Differenzspektren zur Dunkelregeneration auch unter zeitlichem Aspekt ausgewertet.

Dazu wurden jeweils zwei Reflexionsspektren identi-

scher Vorbelichtungswellenlängen mit festen zeitlichen Zwischenräumen zu Differenzspektren verrechnet. Bei der Mittelwertbildung wurde darauf geachtet, daß innerhalb der Zeiträume ( $\Delta t$ ) zwischen zwei Spektren Dunkel- und Meßphasen ungefähr gleiche Zeitanteile beanspruchten.

Für die Abb. 28 wurden Messungen mit den Vorbelichtungswellenlängen 395 und 600 nm ausgewählt; bei beiden betrug die Zeitdifferenz 48 h.

Für die theoretischen (durchgezogenen) Kurven wurde das gleiche Computerprogramm (wie für die Berechnungen zur Dunkelregeneration) benutzt, unter der Annahme einer gleichmäßigen Abnahme aller Pigmentsysteme.



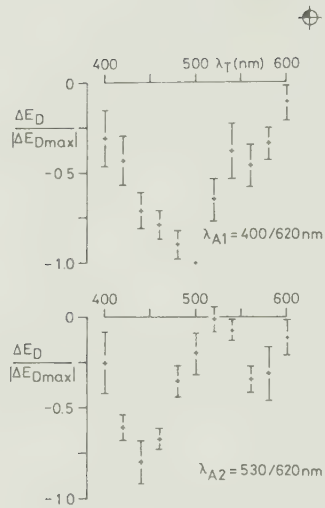


Abb. 29: Extinktionsänderungsspektren nach 15 h Dunkelheit, vor deren Beginn auf Doppelbelichtung (400/620 nm oder 530/620 nm) adaptiert wurde. Mittelwerte und Standardabweichungen aus jeweils 4 Meßwerten insgesamt gewonnen an 11 Tieren (s. Text). Normiert wurden alle Werte auf die maximale Änderung bei  $\lambda_{A1}$ .

#### 6.4. Dunkelregeneration im Pigmentsystem II

Da nach den Ergebnissen aus Kapitel 6.3. davon ausgegangen werden konnte, daß auch SII in Dunkelheit einem Prozess der Erhöhung seiner Rhodopsinfraktion unterworfen ist, wurde versucht, diesen direkt experimentell nachzuweisen.

Dabei wurde von Überlegungen ausgegangen, daß dies nur möglich sei, wenn es meßtechnisch gelingt, SI auszuschalten bzw. die Auswirkungen vernachlässigbar klein werden zu lassen. Dazu wurde eine Doppelbelichtung vor der Dunkelzeit gewählt.

Für die erste Meßserie wurde mit 400 nm und anschließend sofort mit 620 nm sättigend vorbelichtet. Die langwellige Strahlung sollte nur von Stadien des SI absorbiert werden, SII aber das Photogleichgewicht der ersten Wellenlänge beibehalten (vergl. Abb. 2 und 3).

Für die zweite Meßserie wurde dann das Wellenlängenpaar 530/620 nm ausgewählt. Das Photogleichgewicht war somit für SI jedesmal dasselbe, für SII aber wurde es entweder auf die Seite des Metarhodopsins ( $\lambda_{A1} = 400 \text{ nm}$ ) oder auf die des Rhodopsins ( $\lambda_{A2} = 530 \text{ nm}$ ) verschoben (vergl. Abb. 3).

Nach der Doppelbelichtung verblieb das Versuchstier 15 h in Dunkelheit, nach der die Extinktionsänderung gemessen wurde ( $\lambda_{TD} = \text{var.}$ ). Da es nicht möglich

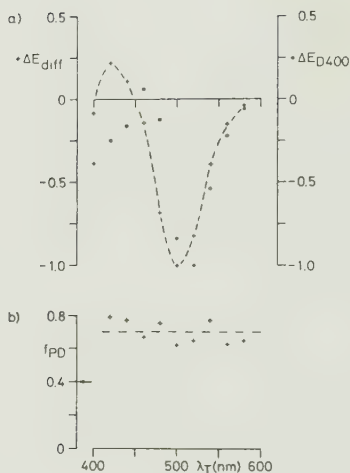


Abb. 30 a): Differenzkurve (gestrichelte Kurve) aus den Extinktionsänderungsspektren in Abb. 29:

$$\Delta E_{diff} = \Delta E_{\lambda A1} - \Delta E_{\lambda A2}$$

normiert auf den Maximalwert.

Der zweite, nur durch Meßpunkte gekennzeichnete Kurvenverlauf errechnet sich durch Subtraktion eines Extinktionsänderungsspektrums mit  $\lambda_A = 530$  nm nur für SII (s. Abb. 31) von  $\Delta E_{diff}$ :

$$\Delta E_{D400} = \Delta E_{diff} - \Delta E_{530SII}$$

Normiert wurde hier auf den Maximalwert.

Abb. 30 b): Rhodopsinfraktion nach Dunkelzeit von SII in Abhängigkeit von der Testwellenlänge. Der Pfeil bezeichnet die Ausgangsrhodopsinfraktion und die gestrichelte Abszissenparallele den Erwartungswert.

war, von allen Tieren Meßreihen im 10-nm- Abstand für die Testwellenlängen zu erhalten, wurde das Spektrum zuerst mit großer Schrittweite punktuell für beide Adaptationswellenlängen (hier Doppelbelichtungen mit 400/620 nm und 530/620 nm) durchmessen, und anschließend Zwischenwerte ( $\lambda_{TD}$ ) genommen. Zur Auswertung wurden nur die Meßreihen herangezogen, die an den für alle Tiere gemeinsamen Meßpunkten übereinstimmten (Abb. 29). Um direkte Vergleiche zu gestatten, wurden alle Werte auf die maximale Extinktionsänderung bezogen ( $\lambda_A = 400/620$  nm,  $\lambda_T = 500$  nm). Die gemessenen Extinktionsänderungen werden durch beide Pigmentsysteme beeinflusst. Um den Anteil von SI zu eliminieren, wurde durch Subtraktion der beiden Meßreihen ein Differenzspektrum gewonnen, das sich wegen der Absorptionscharakteristiken ausschließlich auf SII bezieht (Abb. 30):

$$\Delta E_{400/620} - \Delta E_{530/620} \Rightarrow \Delta E_{\text{diff}} (400, 530)$$

Da davon ausgegangen werden konnte, daß die Dunkelregeneration von SII vernachlässigbar gering ist, wenn von der eingestellten Metarhodopsinfraktion ( $f_M = 0,02$ ) ausgegangen wird, sollte daher nach der Vorbelichtung 530 nm und 15 h Dunkelheit eine von der Dunkelregeneration unbeeinflusste Extinktionsänderung vorliegen. Wird dagegen mit  $\lambda_A = 400$  nm vor der Dunkelzeit belichtet, ist auf Grund der eingestellten Metarhodopsinfraktion von 0,6 mit Dunkelregeneration zu rechnen. Zusammenfas-

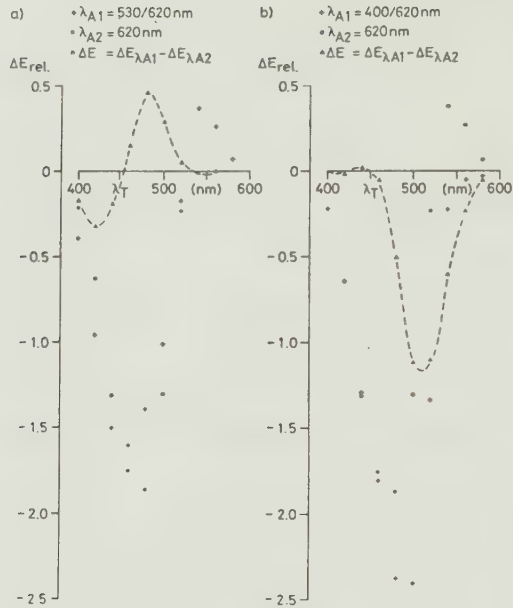


Abb. 31: Hilfsmessungen zur Auswertung von Differenzkurve aus Abb. 30a). Es wurde durch Verrechnung geeigneter Extinktionsänderungsspektren die darin enthaltenen Extinktionsänderungen von SII isoliert:

a) von dem Extinktionsänderungsspektrum mit  $\lambda_{A1} = 530/620 \text{ nm}$  wurde ein zweites mit  $\lambda_{A2} = 620 \text{ nm}$  abgezogen. Es resultiert ein reines Extinktionsänderungsspektrum für SII mit  $\lambda_A = 530 \text{ nm}$  (gestrichelte Kurve).

Normiert wurde auf die maximale Änderung in Abb. 29

b) Auf gleiche Weise wie in a) wurde auch das Extinktionsänderungsspektrum nach  $\lambda_A = 400 \text{ nm}$  für SII

ermittelt (= Differenz von  $\Delta E_{\lambda A1} = 400/62 \text{ nm}$  und  $\Delta E_{\lambda A2} = 620 \text{ nm}$ ).

Die derart ermittelten Extinktionsänderungen wurden als Standardänderungen (entsprechend wie nach  $\lambda_{ref}$ ) für die Berechnung der Rhodopsinfraktionen nach Dunkelzeit für SII benutzt. Normiert wurde wieder auf das Maximum aus Abb. 29.

send bedeutet dies nun, daß sich  $\Delta E_{\text{diff}}(400, 530)$  (Abb. 30 a) aus einem reinen Extinktionsänderungsspektrum nach  $\lambda_A = 530$  nm und einem Extinktionsänderungsspektrum nach  $\lambda_A = 400$  nm plus einem Änderungsspektrum durch Dunkelregeneration ( $\lambda_{AD} = 400$  nm) zusammensetzt. Da hier nur die Dunkelregenerationsänderung interessiert, muß nun das in  $\Delta E_{\text{diff}}$  enthaltene Extinktionsänderungsspektrum mit  $\lambda_A = 530$  nm anderweitig bestimmt werden. Dazu wurde ein Änderungsspektrum nach 530/620 nm gemessen und davon eines nach 620 nm Vorbelichtung subtrahiert (Abb. 31 a). Die Adaptationswellenlänge 620 nm beeinflusst SII nicht (s. Abb. 3), die verschiedenen Testwellenlängen zum Teil doch. Um zu verhindern, daß Extinktionsänderungen zwischen zwei Testwellenlängen von SII die Meßwerte verfälschen, wurde jeweils vor Adaptation auf 620 nm das Photogleichgewicht von SII auf das der folgenden Testwellenlängen eingestellt.

$(\lambda_{T1} \dots \lambda_{A620} \dots \lambda_{T1} \dots \lambda_{T2} \dots \lambda_{A620} \dots \lambda_{T2} \dots \lambda_{T3} \dots)$ .  
 Die dann zu messenden Änderungen beruhen demnach nur noch auf Photokonversion in SI. Wird das daraus resultierende Spektrum von dem nach Vorbelichtung 530/620 nm abgezogen, ist das Ergebnis ein Extinktionsänderungsspektrum für SII nach  $\lambda_A = 530$  nm (Abb. 31 a). Da diese Spektren auf die maximale Änderung wie in Abb. 29 normiert worden waren, durften

sie direkt von dem Differenzspektrum der Abb. 30 subtrahiert werden; um dann das Extinktionsänderungsspektrum von SII nach 40 nm Vorbelichtung plus Rhodopsinzunahme nach Dunkelzeit zu bekommen (Abb. 30). Um aus den Extinktionsänderungen die nach 15 h Dunkelheit vorliegende Rhodopsinfraktion bestimmen zu können (Gl. 12), ist wieder eine 'Standardänderung' nötig. Dazu wurde nach der gleichen Methode wie oben ein Extinktionsänderungsspektrum nach 400 nm Vorbelichtung ermittelt (Abb. 31 b). Aus diesen Änderungen ( $\lambda_A = 400 \text{ nm}$ ) und denen nach zusätzlich 15 h Dunkelzeit ( $\Delta E_{D400}$ , Abb. 30 a), ergibt sich für SII eine konstante Rhodopsinfraktion (Abb. 30 b). Die Erhöhung gegenüber der Ausgangsfraktion entspricht etwa 60% ( $f_p = 0,4$ ,  $f_{pD} = 0,62 - 0,79$ ). Die erhaltenen Werte streuen gleichmäßig um den Erwartungswert, der unter der Voraussetzung berechnet wurde, daß die Zunahme an Rhodopsin auch in SII der Kinetik entsprechend Abb. 23 folgt.



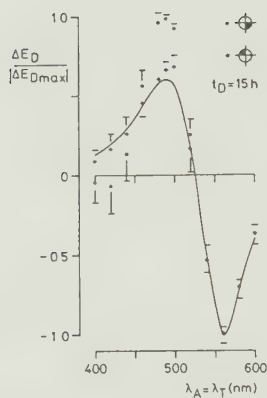


Abb. 32: Differenzspektrum berechnet aus Extinktionsänderungen nach 15 h Dunkelzeit, wobei Adaptations- und Testwellenlänge für jeden Meßpunkt jeweils identisch waren. Gemessen wurde an zwei Augenregionen. Die durchgezogene Kurve ist ein theoretisch berechnetes Spektrum der Dunkelregenerationsänderung von SI in Anlehnung an die Kinetik von Abb. 23. Mittelwerte und Standardabweichungen aus jeweils 4 Meßwerten insgesamt gewonnen an 15 Tieren.

Mit der zuletzt beschriebenen, zeitlich sehr aufwendigen Methode, wurde nur ein einziger Wert der Dunkelregenerationscharakteristik des SII erhalten. Es wurde daher nach einem experimentellen Konzept gesucht, um mehr über die Korrelation der für die Dunkelregeneration relevanten Parameter zu erfahren.

Um die Rhodopsinzunahme in Abhängigkeit von der Ausgangsmetarhodopsinfraktion messen zu können, wurden die Experimente folgendermaßen durchgeführt: nach einer Vorbelichtungswellenlänge ( $\lambda_{AD}$ ) wurde mit der gleichen Wellenlänge ( $\lambda_{TD} = \lambda_{AD}$ ) eine Photokonversion nach  $t_D = 15 \text{ h}$  durchgeführt. Da wieder kaum zu erwarten war, an den einzelnen Versuchstieren vollständige Meßreihen aufnehmen zu können, wurde auch hier die Methode der sprunghaften Änderung der Meßwellenlänge gewählt. Gemessen wurde sowohl am dorso-cranialen, als auch am ventro-caudalen Augenquadranten. Die Spektren sollten sich im Einfluß von SII auf die Meßwerte unterscheiden (vergl. Abb. 13 und 14). In Abb. 32 wird deutlich, daß beide Spektren im langwelligen Bereich  $\lambda_T > 530 \text{ nm}$  einen nahezu identischen Verlauf zeigen, im kurzwelligen dagegen zum Teil stark voneinander abweichen.

Die Kurve aus dem ventro-caudalen Augenbereich läßt sich gut an eine theoretische Kurve anpassen (Abb. 32), die auf Daten für SI basiert. Ein Einfluß von

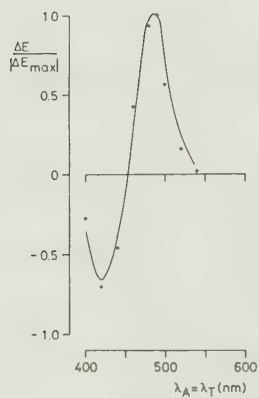


Abb. 33: Differenzkurve der Spektren aus Abb. 32, normiert auf ihren Maximalwert. Die durchgezogene Kurve wurde berechnet als theoretisches Dunkeldifferenzspektrum für SII nach der Kinetik aus Abb. 23.

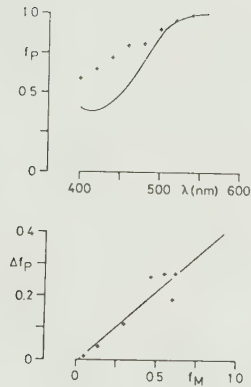


Abb. 34:

oben: Rhodopsinfraktion von SII nach 15 h Dunkelzeit, errechnet aus den Änderungen dargestellt in Abb. 33, aufgetragen gegen die Wellenlänge ( $\lambda_A$ )

unten: Nettorhodopsinfraktionszunahme in Abhängigkeit von der Metarhodopsinfraktion vor Dunkelzeit. Die Regressionsgerade entspricht in der Steigung ( $s = 0,441$ ) in etwa der aus Abb. 23 für  $t_D = 15$  h. ( $r=0,945$ )

SII war demnach in dieser Region vernachlässigbar gering.

Um den Anteil von SII aus dem Spektrum des dorso-cranialen Augenbereichs zu ermitteln, wurden beide Spektren voneinander abgezogen. Die auf diese Weise gewonnene Differenzkurve (Abb. 33) läßt sich wiederum gut annähern durch ein Dunkelregenerationsspektrum für SII.

Direkt ermitteln ließ sich die Rhodopsinfraktion ( $f_{PD}$ ) aber auch aus den Extinktionsänderungen nach Dunkelzeit ( $\Delta E_D$ ) durch Anwendung von Gl 10, (Abb. 34, oben).

Trägt man die Nettorhodopsinzunahme gegen die Metarhodopsinfraktion zu Beginn der Dunkelphase auf, so ergibt sich auch für SII ein linearer Zusammenhang. Die Steigerung der Regressionsgeraden nach  $t_D = 15$  h ist für die beiden Sehpigmentsysteme nahezu identisch ( $s_{SI} = 0,418$ ,  $s_{SII} = 0,441$ ).

## Diskussion zur Dunkelregeneration

Die Ergebnisse zur Dunkelregeneration bei Ephestia kuehniella ergeben folgendes Gesamtbild:

1. Die Rhodopsinfraktion steigt in Abhängigkeit von der Dauer der Dunkelzeit mit einer Halbwertszeit von ca. 7 h (Abb. 19).
2. Die Zunahme ist temperaturabhängig mit einem  $Q_{10}$  von etwa 1,9 und einem Maximum an Regeneration bei ca. 23°C (Abb. 20).
3. Die Erhöhung der Rhodopsinfraktion ist linear abhängig von der Metarhodopsinfraktion zu Beginn der Dunkelzeit (Abb. 23) und entspricht in ihrem Mengenzuwachs dem Anteil an abgebautem Metarhodopsin.
4. Die für SI gefundenen Gesetzmäßigkeiten in Bezug auf Dunkelregeneration treffen auch für SII zu.

Da bisher keine ähnlichen Zusammenhänge bei anderen Insekten, bzw. Arthropoden gefunden wurden, ist ein direkter Vergleich der Dunkelprozeß - Mechanismen nicht möglich. Hinweise, gewonnen an anderen Vertretern dieser Tiergruppe, beschränken sich auf Einzelbeobachtungen (z.b. bei Homarus americanus: Bruno und Goldsmith 1973, 1977, bei Galleria mellonella: Goldmann et al. 1975 u.a.).

Die Temperaturabhängigkeit, sowie die enge Korrelation von Rhodopsinaufbau und Metarhodopsinabbau,

lassen eine stoffwechselabhängige Reaktion vermuten, eventuell sogar einen direkten Umbau von Metarhodopsin zu Rhodopsin. Ob hierbei ein Enzym beteiligt ist, kann zumindest aus der Temperaturabhängigkeit nicht entschieden werden.

Ein seit langem bekanntes Phänomen ist die Beschleunigung chemischer Reaktionen durch Temperaturerhöhung. Eine Faustregel besagt, daß sich die Reaktionsgeschwindigkeit bei einer Temperatursteigerung um  $10^{\circ}\text{C}$  etwa verdoppelt. Auch enzymkatalysierte Reaktionen unterliegen allgemein dieser Regel, jedoch erlangsamt sich der Anstieg der Geschwindigkeit ab einer, für das jeweilige Enzym charakteristischen Temperatur, um anschließend wieder abzufallen. Es wird also ein Maximum durchlaufen, das für die meisten Enzyme bei ca.  $40^{\circ}\text{C}$  liegt (Bisswanger 1979). Dieses Temperaturoptimum von Enzymen wurde früher zu deren Charakterisierung herangezogen. Dies änderte sich als man herausfand, daß die Temperaturabhängigkeit von Enzymen eine komplexe Größe darstellt, die eine Reihe von Teilschritten einschließt und damit ohne deren genaue Analyse keine große Aussagekraft besitzt. Zudem wirkt der thermodynamisch begründeten Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit die Proteinnatur des Katalysators mit ihrer begrenzten Stabilität entgegen. Der Abfall nach dem Optimum wird nicht selten durch irreversible thermische Denaturierung ausgelöst, die von anderen Faktoren (z.B.

dem ph-Wert) zusätzlich beeinflußt werden kann.

Schon daher kann nur auf Grund der Temperaturabhängigkeit der Dunkelregeneration bei Ephestia kuehniella keine Aussage über die Art der Stoffwechselabhängigkeit gemacht werden. Der angegebene  $Q_{10}$  - Wert von 1,9 gilt nur für den Bereich von  $8^{\circ}\text{C}$  bis  $18^{\circ}\text{C}$ , in dem die Reaktionsgeschwindigkeit annähernd linear ansteigt. Im Bereich von  $10 - 20^{\circ}\text{C}$  beträgt er dagegen 1,4 und in dem zwischen  $5$  und  $15^{\circ}\text{C}$  2,13.

Untersuchungen über die Temperaturabhängigkeit der Dunkelregeneration von Rhodopsin poikilothermer Tiere liegen vom Frosch vor. Hier schwanken die Angaben für den  $Q_{10}$  - Wert bei den einzelnen Autoren stark: Peskin (1942) fand zwischen  $15^{\circ}\text{C}$  und  $25^{\circ}\text{C}$  einen  $Q_{10}$  von 1,8, Donner und Reuter (1967) bestimmten in dem Temperaturbereichen von  $8,5 - 13,5^{\circ}\text{C}$  und  $13,5 - 18^{\circ}\text{C}$  den  $Q_{10}$  zu 5,2 bzw. 3,9, in guter Übereinstimmung zu Zewi (1939) der einen Wert um 4,1 zwischen  $7,2^{\circ}\text{C}$  und  $17^{\circ}\text{C}$  nannte.

Die Temperatur-Umsatzkurve von Ephestia kuehniella (Abb. 20) hat um  $23^{\circ}\text{C}$  ein breites Maximum. Die bei höheren Temperaturen größeren Standardabweichungen schließen nicht aus, daß mit zunehmender Anzahl von Meßreihen das Optimum zu höheren Temperaturen verschoben wird. Andererseits zeigt der Wert um  $23^{\circ}\text{C}$  gute Übereinstimmung mit dem von Kotissek (1983) gefundenen für das Optimum der ERG-Amplitude bei etwa

18°C. Da beide Prozesse, sowohl die Dunkelregeneration als auch die Belichtungspotentialentstehung, von Membraneigenschaften beeinflusst werden, könnten solche Temperaturabhängigkeiten mit den Phasenübergängen der Membranlipide interpretiert werden. Man fand, daß bei niedrigen Temperaturen die Beweglichkeit der Membranproteine eingeschränkt ist (Zusammenfassung: Sackmann 1982) und daß die Übergangstemperatur für die Lipid-Phasenumwandlung bei Insekten im Vergleich zu Wirbeltieren (z.B. Diskmembranen aus Froschaugen zeigen -25°C, Stieve 1982) wesentlich erhöht ist. Dies steht in Übereinstimmung mit dem Befund, daß diese Zellmembranen einen deutlich geringeren Anteil an hochungesättigten Fettsäuren besitzen, die eine geringe Fluidität und damit eine geringere Übergangstemperatur besitzen (Dippold 1981).

Weitere Informationen über den Reaktionsmechanismus erhält man, wenn man die Rhodopsinfraktionszunahme in der Dunkelzeit mit den Methoden der Analytik für Reaktionsordnungen untersucht. Danach stellt die Abb. 36 die integrierte Form einer Zeit-Umsatz-Kurve dar. Für den Fall einer Reaktion 1. Ordnung muß sich eine Gerade mit der Steigerung entsprechend der Reaktionskonstanten ergeben (Biswanger S. 58). Die geforderte Linearität zeigt sich jedoch für den Fall, daß die Zeit-Umsatz-Kurve eine Reaktion ohne Rückreaktion beschreibt. Da Abb. 36 eine deutliche

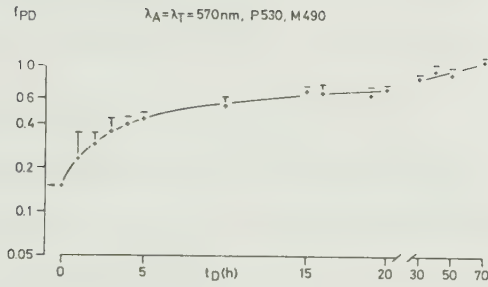


Abb. 36: Rhodopsinfraction nach Dunkelzeit ( $f_{PD}$ ) in Abhängigkeit von deren Dauer ( $t_D$ ). Semilogarithmische Auftragung der Daten aus Abb. 19.

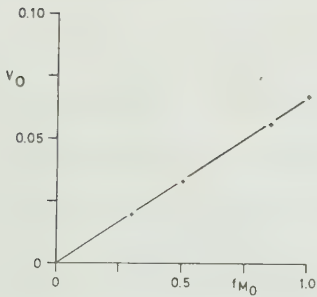


Abb. 37: Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  der Zeit-Umsatzkurven in Abhängigkeit von der Metarhodopsinfraction (Erläuterungen siehe Text).

Abweichung von einem Geradenverlauf zeigt, ist dies als erster Hinweis auf eine Reaktion höherer Ordnung bzw. eine möglicherweise enzymkatalysierte Reaktion zu werten.

Einen zusätzlichen Hinweis auf die Reaktionsordnung erhält man durch Auftragung von Reaktionsparameter, bei denen die Rückreaktion keine Rolle spielt. Ein solcher ist die Anfangsgeschwindigkeit  $v_0$  von Zeit-Umsatz-Kurven bei verschiedenen Ausgangsmetarhodopsinfraktionen (vergl. Bisswanger S. 74-75). Die Anfangsgeschwindigkeit erhält man durch Anlegen einer Tangente an die Kurven im Punkt  $t = 0$ . Bei Auftragung von  $v_0$  gegen die Ausgangsmetarhodopsinfraktion erhält man für bestimmte Reaktionsordnungen typische Kurvenverläufe (vergl. Gareth Morris S. 277). Die nach dieser Methode aus den Werten der Abb. 23 durch ordinatenparallele Schnitte für verschiedene Metarhodopsinfraktionen gewonnenen  $v_0$  - Werte deuten in Abb. 37 auf eine Reaktion 1. Ordnung hin. Dieser Widerspruch zur Aussage der in Abb. 36 dargestellten Kurve läßt sich dadurch erklären, daß die in Abb. 37 dargestellte Kurve dem Abschnitt einer enzymkatalysierten Reaktion entspricht, bei der die Substratkonzentration ( $= f_M$ ) wesentlich kleiner als der für eine katalysierte Reaktion typische Wert  $k_m$  ist. Dadurch erscheint eine mögliche Reaktion höherer Ordnung (Enzymkatalyse) als Reaktion pseudo-erster-Ordnung

vergl. Jungermann Möhler S. 73) vorzuliegen. Da aus den beiden Auftragungen (Abb. 36, 37) nur geschlossen werden kann (1.), es handelt sich um keine Reaktion 0. Ordnung, (2.) aber eventuell um eine Reaktion 1. Ordnung mit Rückreaktion (3.) bzw. eine Reaktion höherer Ordnung (mit niedriger Substratkonzentration), kann aus den vorliegenden Ergebnissen über den biochemischen Mechanismus der Dunkelregeneration keine definitive Aussage gemacht werden. Eine enzymkatalysierte Synthese des Rhodopsins und eine thermische Zerfallsreaktion des Metarhodopsins würde aber auch nicht im Widerspruch dazu stehen. Der experimentelle Nachweis (Zeit - Umsatzkurven bei mehreren extremen Temperaturen) läßt sich auf Grund der dafür zu kurzen Lebensdauer der Tiere nicht führen.

Einen Abbau von Metarhodopsin nach einer Reaktion 1. Ordnung fand Bernard (1983) in den Photorezeptoren verschiedener Lepidopteren. Bei 23°C gingen hier in 13 min etwa 50% an Metarhodopsin verloren, die Abnahme wird durch Abkühlung stark verlangsamt (Zeitkonstante 71 min). Dagegen folgt die von ihm beobachtete Zunahme an Rhodopsin keiner Reaktion 1. Ordnung und benötigt Halbwertszeiten von ca. 70 min bei 23°C. Bei Zimmertemperatur entsteht so etwa 60% der maximalen durch Belichtung einstellbaren Rhodopsinfraktion.

Außer daß bei Ephestia kuehniella eine direkte Korrelation zwischen Metarhodopsinabbau und Rhodopsinaufbau gefunden wurde (Abb. 26 und 27), beanspruchten die Dunkelprozesse bei ihr wesentlich längere Zeit (Halbwertszeit von etwa 7 h bei 22°C, Abb. 19). Bernard (1983) postulierte für die experimentell bestimmte Zunahme an Rhodopsin eine Neusynthese an Sehpigment. Zu dem gleichen Ergebnis gelangte auch Schwemer (1983) bei Calliphora erythrocephala. Auch er wies einen Abbau von Sehpigment im Dunkeln nach, der vor allem das Metarhodopsin betraf. Während einer Dunkelzeit von 22 h sank die Metarhodopsinfraktion von 70% auf 28%, der totale Pigmentgehalt aber nur um 25%. Daraus schließt Schwemer auf eine Zunahme von etwa 17%. Eine Isomerisation in diesem Zusammenhang schließt er mit der Begründung aus, daß in Untersuchungen zur Photochemie von Insektensehpigmenten nachgewiesen worden sei (Hamdorf 1973), daß zuerst Isomerisation der prosthetischen Gruppe stattfinden muß, bevor dann durch diese Konformationsänderung des Opsins initiiert wird. Da eine Isomerisation von Retinal nur durch Absorption eines Lichtquants erfolgen kann, muß eine Neusynthese stattgefunden haben. Bestätigung dieser Annahme fand er in den Ergebnissen von Versuchen, bei denen entweder 11-cis- oder all-trans-Retinal in das Komplexauge von Calliphora erythrocephala injiziert worden waren. Nur 11-cis-Retinal führte zu einer

Regeneration von Rhodopsin, all-trans-Retinal zeigte keine Wirkung (Schwemer 1983). Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß auch die Neusynthese von Rhodopsin unbedingt auf das Vorhandensein des 11-cis Isomers im Rezeptor selber oder den rezeptornahen Teilen des Auges angewiesen ist. Woher stammt diese 11-cis-Retinal ?

Zur Biochemie der Vitamin A-Derivate wurde bisher in erster Linie an Vertebraten (Rind) gearbeitet. Dabei fand man, daß Vorstufen, wie z.B. das Provitamin A über pflanzliche Nahrung aufgenommen werden, oder Retinol aus tierischer Kost.  $\beta$ -Carotin (Provitamin A) wird im Darmlumen gespalten und das entstandene Retinal zu Retinol hydriert. Dieses weist genau wie das direkt aufgenommene die all-trans-Konfiguration auf. Über die Mucosa aufgenommen, kann es als Ester in der Leber gespeichert werden, um von da bei Bedarf über den Blutstrom weitertransportiert zu werden. Dazu wird Retinal stets an ein wasserlösliches "retinalbindendes Protein" (RBP) gebunden.

Im Pigmentepithel findet sich eine Blut-Retina-Barriere, die eine direkte Übergabe an die Sinneszellen verhindert. Retinol wird daher erst an spezielle Rezeptoren der Pigmentepithelzellen gebunden (Ottomello u. Maraini 1981, Bok und Heller 1980). Bei der Aufnahme in die Zelle verbleibt der Proteinanteil am Rezeptor außerhalb der Plasmamembran, bis er kom-

petitiv von dem nächsten Retinol - RPB - Komplex verdrängt wird. (Chen und Heller 1977) Das Retinol liegt nicht frei im Cytoplasma der Pigmentepithelzellen vor, sondern wird sofort an ein Plasmamembranprotein an der Innenseite gebunden (Maraini et al. 1977). Ein weiteres Protein steht für den Transport innerhalb der Zelle zur Verfügung (Futtermann und Rollins 1973).

Zwischen dem Pigmentepithel und den Photorezeptoren findet ein ständiger Austausch von Retinol statt, wobei die Richtung vom aktuellen Adaptationszustand abhängig ist. Helladaptation fördert die Übergabe von den Photorezeptoren zum Pigmentepithel (Berman et al. 1980), bei Dunkeladaptation ist es umgekehrt. Für den Transport wurde in der Matrix zwischen den Photorezeptoren ein 'interstitielles Protein' als Carrier identifiziert (Liou et al. 1982, Lai et al. 1982).

Die Komplexität dieses Transportmechanismus zeigt, daß Retinol offenbar nie frei vorliegen kann, an welcher Stelle dieser Transportkette aber die Isomerisation zur 11-cis-Form stattfindet, ist nach wie vor ungeklärt.

Soweit Angaben dazu gefunden wurden, lag das Retinol in allen Untersuchungen stets in der all-trans-Konfiguration vor.

Das Pigmentsystem beinhaltet mit hoher Wahrscheinlichkeit den Schlüssel zur Lösung dieser Frage.

Dowling hatte bereits 1960 gefunden, daß eine Regeneration in der isolierten Retina praktisch nicht feststellbar ist.

Die Phospholipide der Pigment-Epithelzellmembranen sollen hier über strukturelle Einflüsse eine wichtige Rolle spielen (Shichi 1971).

Bei Invertebraten ist weit weniger über die Biochemie ihrer Sehpigmente bekannt. Von Calliphora erythrocephala weiß man, daß der Sehpigmentgehalt ihrer Photorezeptoren in direkter Beziehung steht zum Vitamin A-Gehalt der Nahrung (Paulsen, Schwemer 1979). Fliegen, die mit reinem Muskelfleisch ernährt wurden, weisen sehr geringe Mengen an Sehpigment auf, solche mit Leber gezogenen dagegen große Mengen. Das in der Leber enthaltene hochkonzentrierte Retinol oder der Retinolester liegt aber zum größten Teil als all-trans Isomer vor, 11-cis-Retinal findet sich nur in Spuren.

Schwemer (1983) hat den Nachweis erbringen können, daß für eine Neusynthese 11-cis-Retinal vorliegen muß, da nur dieses die Bildung von Opsin auslöst, all-trans dagegen ist vollkommen wirkungslos. Erst nach blau-violetter Bestrahlung wird es für die Regeneration nutzbar (Schwemer 1979).

Ähnliches vermutet man auch bei Vertebraten, da Belichtung mit schwachen Intensitäten regenerationsfördernd wirkt (Hubbard 1959, Shichi et al. 1982). Um eine geordnete Isomerisation zu 11-cis-Retinal

aus der all-trans-Form durch Photonen zu gewährleisten, muß der Chromophor über eine Schiffssche Base an ein Protein gebunden sein, da sonst bevorzugt andere Stereoisomere, wie 13-cis-Retinal, entstehen (Futterman et al. 1973).

Im Bienenauge könnte das nachgewiesene wasserlösliche Protein (s. Diskussion Pigmentsysteme) die Aufgabe eines solchen 'Photokatalysators' zukommen, da es ein Chromoproteid ist (Pepe et al. 1980, 1981). Dieses zeigt überraschende Übereinstimmung mit dem Retinochrom der Cephalopoden (Hara und Hara 1972): die Stereospezifität bei der Bindung der prosthetischen Gruppe, die Photointerkonversion von all-trans zu 11-cis-Retinal und umgekehrt, sowie das Molekulargewicht, das bei beiden geringer ist als das der Rhodopsine.

Die Erwägung von Pepe et al. (1982) zeigten damit auch Interpretationsmöglichkeiten für die Funktion des SIII auf. Leider hielten sie einer eingehenderen Untersuchung nicht stand.

Soweit festgestellt werden konnte, verändert SIII in Dunkelheit weder seine Absorptionseigenschaften, noch wird es ab- oder umgebaut. Von Cephalopoden-Retinochrom ist bekannt, daß beim Austausch der prosthetischen Gruppen der Photoprodukte Metaretinochrom und Metarhodopsin jeweils der Ausgangsfarbstoff entsteht (s. Einleitung). Dies bedeutet, daß auch Retinochrom deutliche Veränderungen seines chemischen

Gleichgewichts nach Dunkelheit zeigt. Entsprechendes hätte in diesem Zusammenhang auch bei SIII erwartet werden müssen, war aber nicht feststellbar.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß auch Ephestia kuehniella zu den Insekten zu zählen ist, die über mindestens zwei Sehpigmentsysteme verfügen. Zusätzlich wurde bei ihr ein drittes interkonvertibles Pigmentsystem nachgewiesen, dessen Funktion aber bisher nicht geklärt werden konnte. Weiter kann als gesichert gelten, daß die Mehlmotte - neben der Photoregeneration - auch die Fähigkeit zur Dunkelregeneration der Rhodopsine beider Sehpigmentsysteme besitzt. Obwohl aus den Ergebnissen dieser Arbeit nicht eindeutig auf den Mechanismus geschlossen werden kann, ist eine Enzymkatalyse des Rhodopsinaufbaus und / oder eine thermische Zerfallreaktion des Metarhodopsinabbaus wahrscheinlich.



## 8. Anhang

### 8.1. Formelanhang

#### Definitionen:

- $\lambda_{AD}$  : Adaptationswellenlänge für die Einstellung des Photogleichgewichts vor Dunkelzeit
- $\lambda_{TD}$  : Testwellenlänge nach Dunkelzeit
- $\lambda_A, \lambda_T$  : Adaptations,- bzw. Testwellenlänge zur Durchführung der photometrischen und elektrophysiologischen Messungen ohne Dunkelzeit
- $\lambda_{ref}$  : Referenzwellenlänge
- $t_D$  : Dauer der Dunkelzeit
- $T_D$  : Temperatur während der Dunkelzeit
- $E_M, E_P$  : nat. Extinktion des Metarhodopsins und des Rhodopsins
- $\Delta E = E_\infty - E_0$  : Extinktionsänderung
- $R_0, R_\infty$  : Reflexion zum Zeitpunkt Null der Testbelichtung, nach Einstellung des Gleichgewichts
- $f_P, f_M$  : rel. Pigmentkonzentrationen  $f_P + f_M = 1$
- $\gamma_P, \gamma_M$  : Isomerisationsquantenausbeute des Rhodopsins und des Metarhodopsins
- $\alpha_P, \alpha_M$  : Absorptionskoeffizienten des Rhodopsins, des Metarhodopsins
- $F$  : Anpassungsfaktor der rel. Pigmentgesamtkonzentrationen

$I$  : Quantenstromdichte

$f_{PD}$  : Rhodopsinfraktion nach Dunkelzeit

Ableitungen:

Für saturierende monochromatische Bestrahlung ergibt sich für die Extinktionsänderung

$$1) \quad \Delta E = E(\infty) - E(0) = \ln R(0) / R(\infty)$$

$E(0)$  und  $R(0)$  sind die Werte für die Extinktion und die Reflexion bei Belichtungsbeginn ( $t = 0$ ),  $E(\infty)$  und  $R(\infty)$  die für  $t \rightarrow \infty$ .

Als weitere Voraussetzungen gelten

Zu jedem Zeitpunkt  $t$  ist die Summe der Konzentrationen von  $P$  und  $M$  gleich  $C$

$$2) \quad C_P + C_M = C$$

und weiter

$$3) \quad f_P + f_M = 1$$

das Lambert-Beersche Gesetz ist gültig:

$$4) \quad E = (\alpha_P f_P + \alpha_M f_M) C d K$$

wobei  $d$  die effektive Schichtdicke der Probe darstellt und  $K$  den Anpassungsfaktor der relativen Absorptionskoeffizienten  $\alpha_P$  und  $\alpha_M$  an die molaren natürlichen.

Bei Berücksichtigung von 4 und 1 sowie 3 ergibt sich somit

$$5) \quad \Delta E = (\alpha_P - \alpha_M) (f_{Peq} - f_{P0}) C d K$$

$f_{P0}$  und  $f_{Peq}$  sind die Fraktion von  $P$  für  $t=0$  und nach Einstellung des photochemischen Gleichgewichts ( $t \rightarrow \infty$ )

Es gilt nach Hamdorf (1979):

$$6) \quad f_{\text{Peq}} = \frac{\alpha_M \cdot \gamma_M}{\alpha_M \gamma_M + \alpha_P \gamma_P} \quad ; \quad f_{\text{Meq}} = \frac{\alpha_P \gamma_P}{\alpha_M \gamma_M + \alpha_P \gamma_P}$$

Der isosbestische Punkt  $\lambda_{\text{iso}}$  eines Pigment-systems ist definiert mit

$$7) \quad \alpha_P = \alpha_M$$

Nach (5) wird die Extinktionsänderung an dieser Stelle

$$\Delta E = 0$$

Für die Extinktion von n Pigmentsystemen in der Probe gilt allgemein:

$$8) \quad E = E_{\text{MI}} + E_{\text{PI}} + E_{\text{MII}} + E_{\text{PII}} + \dots + E_{\text{Mn}} + E_{\text{Pn}}$$

Die relative Extinktionsänderung errechnet sich für zwei Pigmentsysteme dann

$$9) \quad \Delta E_{\text{rel}} = \frac{(\alpha_{\text{PI}} - \alpha_{\text{MI}}) (f_{\text{PI}} - f_{\text{PI0}}) + F (\alpha_{\text{PII}} - \alpha_{\text{MII}}) (f_{\text{PII}} - f_{\text{PII0}})}{[(\alpha_{\text{PI}} - \alpha_{\text{MI}}) (f_{\text{PI}} - f_{\text{PI0}}) + F (\alpha_{\text{PII}} - \alpha_{\text{MII}}) (f_{\text{PII}} - f_{\text{PII0}})]_{\text{max}}}$$

Ausgehend von der Extinktionsänderung (5) kann Rhodopsinfraktion errechnet werden. Für die Rhodopsinfraktion nach Dunkelzeit ergibt sich daraus ein Gleichungssystem mit zwei Unbekannten:

$$10) \quad \Delta E_D = (\alpha_P - \alpha_M) \cdot (f_{\text{Peq}, \lambda T} - f_{\text{PD}})$$

$$11) \quad \Delta E_{\text{ref}} = (\alpha_P - \alpha_M) \cdot (f_{\text{Peq}, \lambda T} - f_{\text{Peq}, \lambda \text{ref}})$$

Durch Division der beiden oberen Gleichungen erhält man nach Umformung und Einsetzen der theoretischen Reaktionen:

$$12) \quad f_{PD} = f_{Peq, \lambda T} - \frac{\Delta E_D}{\Delta E_{ref}} (f_{Peq, \lambda T} - f_{Peq, \lambda ref})$$

Für die Berechnung der Differenzspektren aus solchen der Reflexion gilt:

$$13) \quad \Delta E_{diff} = \log \frac{R_{\lambda A1, \lambda T}}{R_{\lambda A2, \lambda T}}$$

Dies entspricht einem Differenzspektrum berechnet aus Extinktionsänderungen

$$14) \quad \Delta E_{diff} = \Delta E_{\infty, \lambda A1, \lambda T} - \Delta E_{\infty, \lambda A2, \lambda T}$$

da definitionsgemäß

$$15) \quad f_{p\infty, \lambda A1, \lambda T} = f_{p\infty, \lambda A2, \lambda T}$$

ist

$$16) \quad (f_{PD, \lambda A2, \lambda T} - f_{PD, \lambda A1, \lambda T})$$

konstant gegenüber  $\lambda_T$ .

Für das Differenzspektrum gilt dann also:

$$17) \quad \Delta E_{\lambda A1, \lambda A2, \lambda T} = (\alpha_{p, \lambda T} - \alpha_{M, \lambda T}) \cdot \text{const.}$$

(vergl. Hamdorf 1973)

Für die Extinktionsänderungen mit  $\lambda_T = \text{var.}$

und  $\lambda_A = \text{const.}$  gilt

$$18) \quad \Delta E = (\alpha_{p, \lambda T} - \alpha_{M, \lambda T}) (f_{Peq, \lambda T} - f_{Peq, \lambda A})$$

Für  $\lambda_A = \text{var.}$  und  $\lambda_T = \text{const.}$  geht (18) über in

$$19) \quad \Delta E = \text{const.} \cdot (f_{Peq, \lambda T} - f_{Peq, \lambda A})$$

$f_{Peq}$  ist bei  $\lambda_T$  unabhängig von  $\lambda_A$ .



## 8.2. Struktogramme zu den Computerprogrammen

Den Berechnungen wurden folgende Formel zugrunde gelegt.

$$22) \quad \Delta E = (E_{SI} + E_{SII} + E_{SIII} + E_{SIV}) \lambda_{A1} - \\ (E_{SI} + E_{SII} + E_{SIII} + E_{SIV}) \lambda_{A2}$$

die Extinktion nach Vorbelichtung berechnet sich über:

$$23) \quad E_{\lambda A, S} = (\alpha_p f_p + \alpha_M f_M) F$$

wobei F der Anpassungsfaktor für die relative Konzentration des Pigmentsystems S ist, bezogen auf SI

Programm I: Berechnung des Differenzspektrums in interaktiven Betrieb. Der Computer berechnete im nachfolgenden Programm Differenzspektren mit Werten in 10 nm - Abstand im Wellenlängenbereich 350 bis 600 nm. Vorgegeben wurden dabei die "Randwerte", das heißt, die beiden Adaptationswellenlängen und für jedes Pigmentsystem die Wellenlänge des Amplitudenmaximums des Ausgangsfarbstoffes  $\lambda_{pmax}$  und des Photoprodukt  $\lambda_{Mmax}$ , das Amplitudenverhältnis der maximalen Absorptionskoeffizienten ( $A = \alpha_M / \alpha_p$ ), sowie der Faktor für die relative Konzentration F.

Aus einem Feld, in dem die Nomogramme für theoretische Rhodopsine mit Absorptionsmaxima von 350 - 600 nm gespeichert waren, konnte der Rechner die für die entsprechenden Randwerte charakteristischen  $\alpha$ -Werte

heraussuchen, die Fraktionen berechnen und anschließend die Extinktionen. Die Extinktionsspektren der Adaptationswellenlängen wurden abgespeichert und waren abrufbar. Im allgemeinen aber wurden daraus ohne Unterbrechung die Differenzspektren berechnet und normiert.

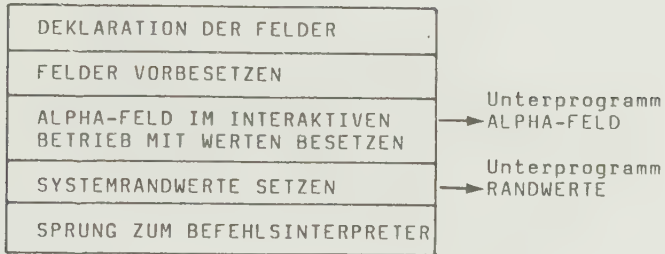
Das Ergebnis wurde als Grafik auf einen angeschlossenen Bildschirm ausgegeben. Anschließend konnte durch das Befehlsmenue der berechnete Wert angezeigt, oder die Randwerte für die nächste Berechnung geändert werden. Auf diese Weise konnte im Dialog mit dem Rechner die theoretisch berechnete Kurve durch gezielte Variation der Parameter solange verändert werden, bis sie mit der über die Meßwerte vorgegebenen Übereinstimmte.

Bei der Programmbeschreibung wird auf ein Listing verzichtet, da dieses in einem seltenen Basic-Dialekt verfaßt wurde. Das Struktogramm soll im weiteren in Einzelblöcken dargestellt werden, um den Überblick zu erleichtern.

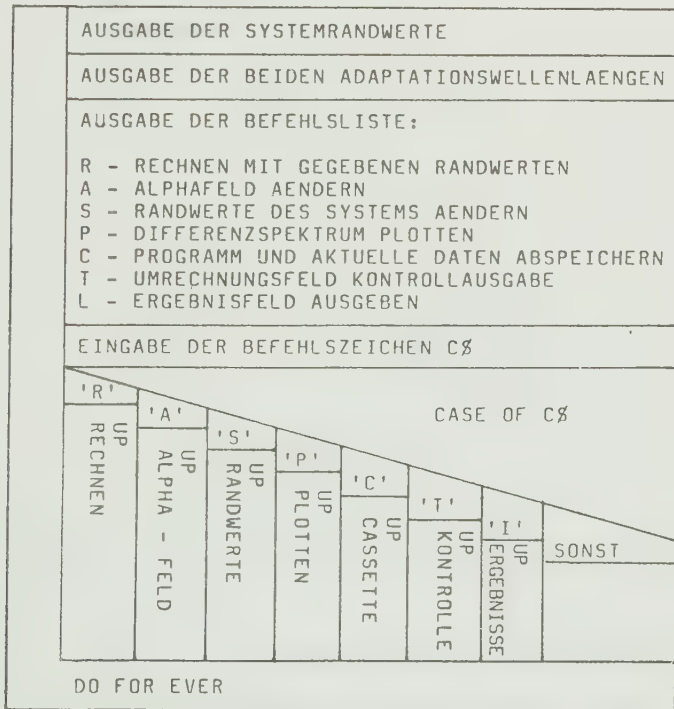
Das Programm unterteilt sich in 2 getrennte Bereiche:

- a). Initialisieren
- b). Steuerung der Aktivitäten mit dem Befehls-  
interpreter

### 1.1. INITIALISIEREN



### 1.2. BEFEHLSINTERPRETER



### 1.2.1. UP RECHNEN

|                                                     |
|-----------------------------------------------------|
| EXTINKTION FUER<br>$\lambda_A, \lambda_B$ BERECHNEN |
| DIFFERENZ BILDEN                                    |
| $E_{DIFF} = E_{\lambda A} - E_{\lambda B}$          |
| NORMIEREN                                           |
| SPRUNG INS UP<br>'PLOTTEN'                          |

→ nach Gl. 23

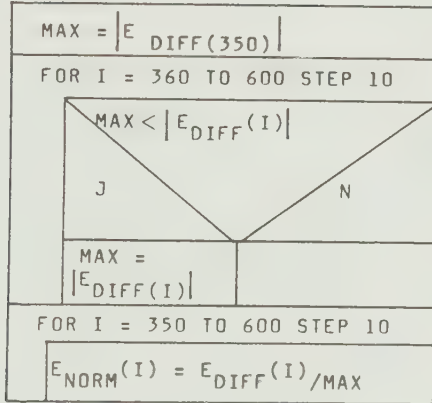
#### 1.2.1.1. EXTINKTION FUER $\lambda_A, \lambda_B$ BERECHNEN

|                                                     |
|-----------------------------------------------------|
| FRAKTION AUF 0 SETZEN                               |
| FRAKTION MIT NEUEM $\lambda_{MAX}$ BERECHNEN        |
| UNTIL ALLE 4 SYSTEME                                |
| $\lambda_T = 350 \text{ nm}$                        |
| LOESUNGSFELD AUF 0 SETZEN                           |
| BERECHNEN VON $E_\lambda$ UND<br>AUFSUMMIEREN       |
| UNTIL ALLE 4 SYSTEME                                |
| $\lambda_T = \lambda_T + 10 \text{ nm}$             |
| UNTIL $\lambda_T = 600 \text{ nm}$                  |
| UNTIL ALLE ZWEI ADAPTATIONSWELLENLAENGEN<br>(A + B) |

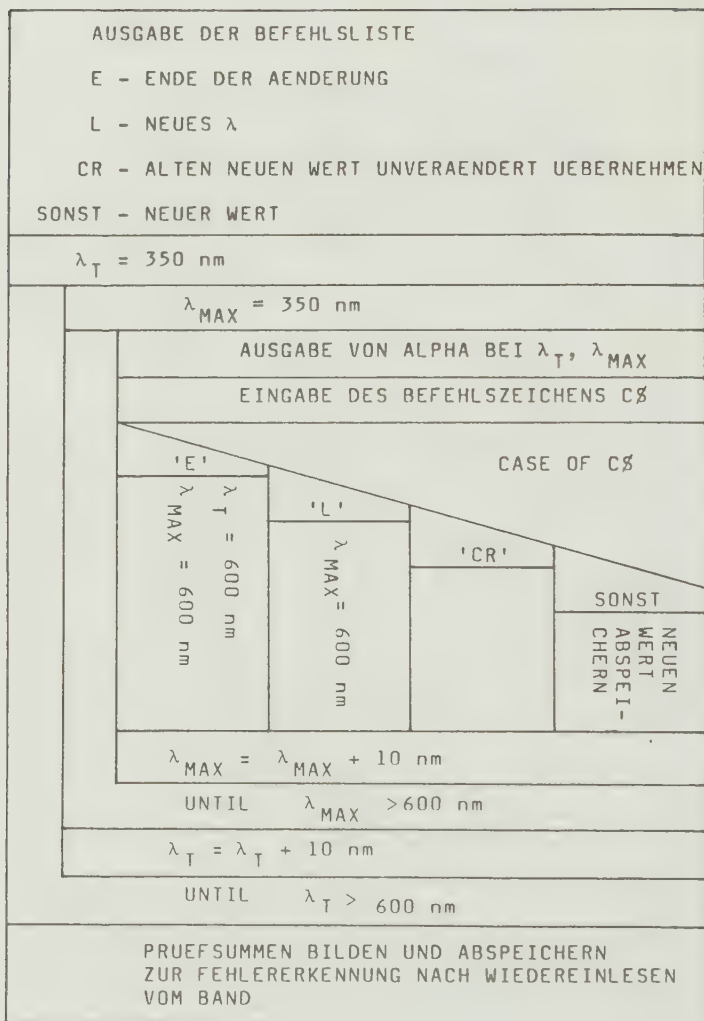
#### 1.2.1.2. DIFFERENZEN BILDEN

|                                                     |
|-----------------------------------------------------|
| FOR I = 350 TO 600 STEP 10                          |
| $E_{DIFF}(I) = E_{\lambda A}(I) - E_{\lambda B}(I)$ |

1.2.1.3. NORMIEREN



# 1.2.2. UP ALPHA - FELD



CR → Carriage Return = Leerbefehl

### 1.2.3. UP RANDWERTE

|                                                     |
|-----------------------------------------------------|
| AUSGABE DER BEFEHLSLISTE                            |
| E - ENDE DER AENDERUNG                              |
| L - NEUE ZEILE                                      |
| CR - ALTEN WERT ABSPEICHERN                         |
| SONST - NEUER WERT                                  |
| ADAPTATIONSWELLENLAENGEN WAEHLEN                    |
| $\lambda_{PMAX}$ , $\lambda_{MMAX}$ , A, F VORGEBEN |

#### 1.2.3.1. ADAPTATIONSWELLENLAENGEN

|                                                              |                                                                   |    |                          |
|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----|--------------------------|
| AUSGABE DER BEIDEN ADAPTATIONSWELLENLAENGEN                  |                                                                   |    |                          |
| CURSORZEICHEN SETZEN                                         |                                                                   |    |                          |
| BEFEHLSINGABE CØ                                             |                                                                   |    |                          |
| CASE OF CØ                                                   |                                                                   |    |                          |
| ENDEKRI-<br>TERIUM<br>SETZEN<br>FUER<br>BEENDEN<br>DES<br>UP | 'L'                                                               | CR |                          |
|                                                              | ENDEKRI<br>TERIUM<br>SETZEN<br>FUER<br>BEENDEN<br>DER<br>SCHLEIFE |    | SONST                    |
|                                                              |                                                                   |    | WERT<br>AB-<br>SPEICHERN |
| CURSORZEICHEN LOESCHEN UND NEUEN WERT<br>EINSCHREIBEN        |                                                                   |    |                          |
| UNTIL ZWEITE ADAPTATIONSWELLENLAEGE ODER<br>ENDEKRITERIUM    |                                                                   |    |                          |

1.2.3.2.  $\lambda_{P\text{MAX}}$ ,  $\lambda_{M\text{MAX}}$ , A, F

| ENDEKRITERIUM ? |                                                        | N                                             |                          |
|-----------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------|
| J               |                                                        |                                               |                          |
|                 | AUSGABE DER AKTUELLEN SYSTEMRANDWERTE                  |                                               |                          |
|                 | CURSORZEICHEN SETZEN                                   |                                               |                          |
|                 | BEFEHLSEINGABE CØ                                      |                                               |                          |
|                 | CASE OF CØ                                             |                                               |                          |
|                 | 'E'                                                    |                                               |                          |
|                 | SETZEN ENDEKRI-<br>TERIUM<br>FUER<br>UP                | 'L'                                           |                          |
|                 |                                                        | SETZEN ENDEKRI-<br>TERIUM<br>FUER<br>SCHLEIFE | CS                       |
|                 |                                                        |                                               | SONST                    |
|                 |                                                        |                                               | WERT<br>AB-<br>SPEICHERN |
|                 | CURSORZEICHEN LOESCHEN UND NEUEN WERT<br>EINSCHREIBEN  |                                               |                          |
|                 | UNTIL ALLE 4 WERTE EINES SYSTEMS<br>ODER ENDEKRITERIUM |                                               |                          |
|                 | UNTIL ALLE 4 SYSTEME ODER ENDEKRI-<br>TERIUM FUER UP   |                                               |                          |

1.2.4. UP PLOTTEN

|                                                                                                                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ABSZISSE MIT BESCHRIFTUNG PLOTTEN                                                                                |
| ORDINATE MIT BESCHRIFTUNG PLOTTEN                                                                                |
| ZEICHEN DES GRAPHEN UNTER<br>VERWENDUNG VON $E_{\text{NORM}}$ UND<br>DEN BETRIEBSSYSTEMEIGENEN<br>GRAFIKBEFEHLEN |

1.2.5. UP CASSETTE

|                                                                                    |
|------------------------------------------------------------------------------------|
| AUSGABE DER MELDUNG<br>'CASSETTENRECORDER STARTEN<br>UND CARRIAGE RETURN DRUECKEN' |
| PROGRAMM + AKTUELLE DATEN<br>AUF CASSETTE SCHREIBEN                                |

Wird das Programm wieder eingelesen, beginnt der Rechner an dieser Stelle zu arbeiten

|                                                             |
|-------------------------------------------------------------|
| NACHPRUEFEN OB ALPHAFELD<br>FEHLERFREI EINGELESSEN<br>WURDE |
| FEHLERMELDUNG AUSGEBEN                                      |

1.2.6. UP KONTROLLE

|                        |
|------------------------|
| FOR I = 1 TO 13        |
| T (I) UND T (I + 13)   |
| NEBENEINANDER AUSGEBEN |

Das T-Feld enthält alle zulässigen  $\lambda$ -Werte  
Schutz vor sinnlosen Eingaben.

1.2.7. UP ERGEBNIS

|                                              |
|----------------------------------------------|
| AUSGABE DER BEFEHLSLISTE                     |
| 1 - $E_{\lambda A}$ - WERTE                  |
| 2 - $E_{\lambda B}$ - WERTE                  |
| 3 - $E_{DIFF}$ - WERTE                       |
| 4 - $E_{NORM}$ - WERTE                       |
| EINLESEN DES E-SCHLUESSELS                   |
| FOR I = 350 TO 470 STEP 10                   |
| E(I) und E (I+130)<br>NEBENEINANDER AUSGEBEN |

Programm II: Suchprogramm

Nach Vorgabe eines Soll-Differenzspektrums sucht der Rechner die Randwertkombinationen für die Systeme, die mit einer Toleranz  $\epsilon$  , ein solches Spektrum ergeben.

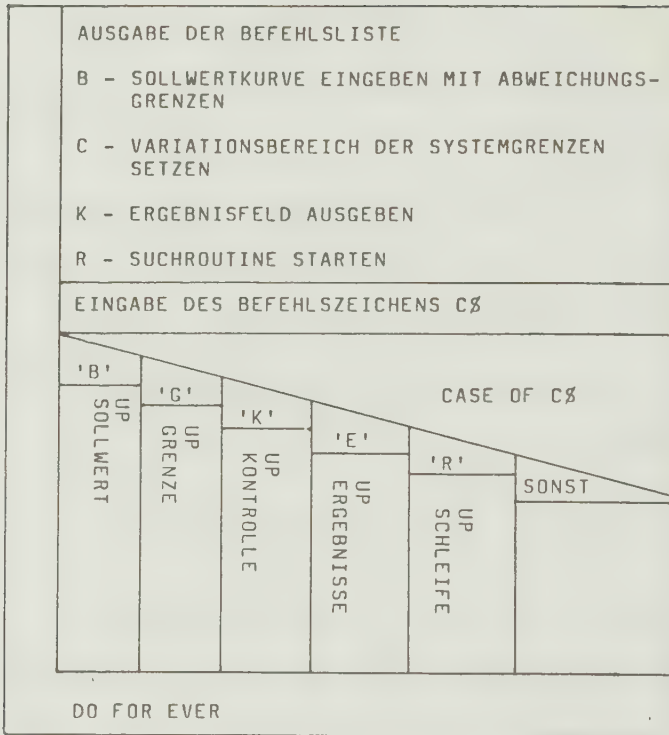
Dazu war es notwendig einen neuen Befehlsinterpreter zu schreiben, der folgende Funktionsbereiche umfaßt:

- Sollwertkurve des Differenzspektrums eingeben
- die Anfangs - und Endwerte des Variationsbereichs der Systemgrenzen setzen, kontrollieren und verändern
- das Suchen starten
- das Ergebnis der Suche ausgeben

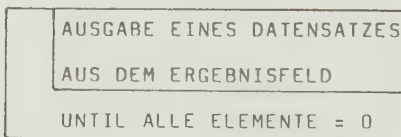
Es konnten bis zu 40 Lösungsmöglichkeiten vom Rechner abgespeichert und am Ende des Programmes abgerufen werden.

Es wurden einige Unterprogramme aus Programm I verwendet. Folgende Programmteile wurden neu entwickelt:

## 2.1 BEFEHLSINTERPRETER

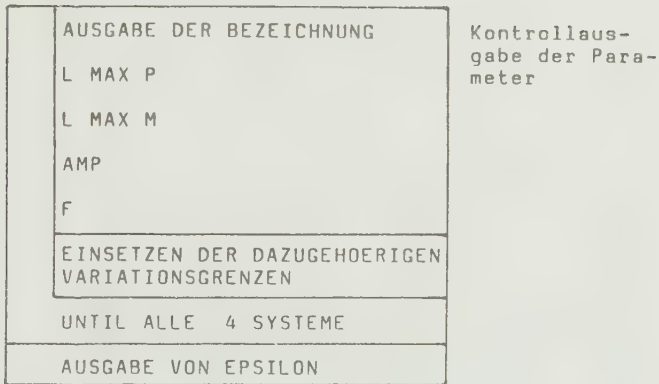


### 2.1.1. UP ERGEBNIS

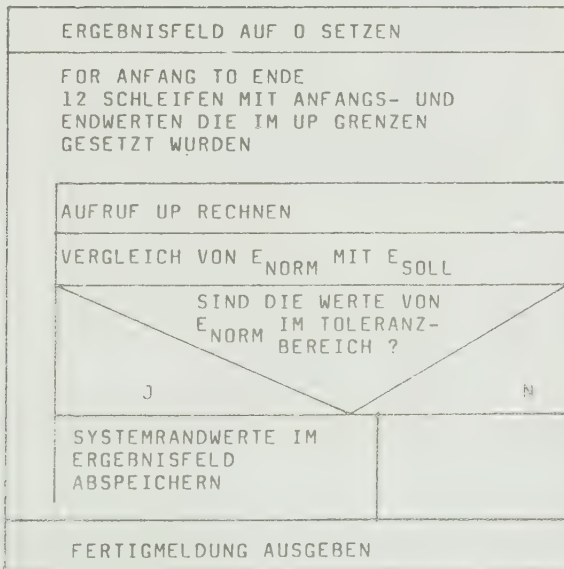


Systemparameter der Lösung

2.1.2. UP KONTROLLE



2.1.3. UP SCHLEIFE



2.1.4. UP GRENZE

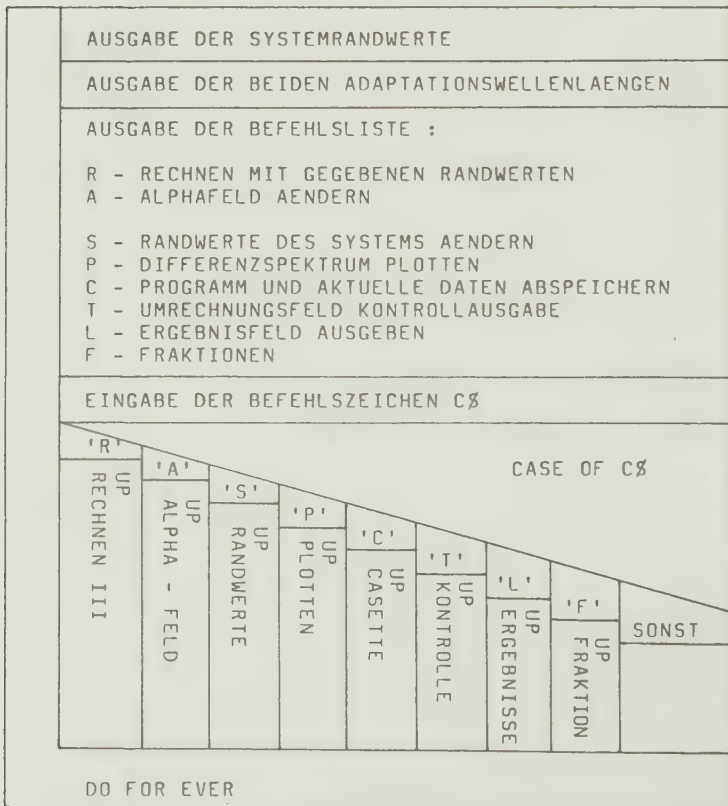
|  |                                                                        |
|--|------------------------------------------------------------------------|
|  | AUSGABE DER BEZEICHNUNG<br>LMAXP<br>LMAXM<br>AMP<br>F<br>CURSOR SETZEN |
|  | VARIATIONSGRENZE EINLESEN UND<br>AN CURSORPOSITION AUSGEBEN            |
|  | CURSOR LOESCHEN                                                        |
|  | UNTIL ALLE 8 WERTE                                                     |
|  | UNTIL ALLE 4 SYSTEME                                                   |
|  | EINGABE DES EPSILON-WERTES                                             |

2.1.5. UP SOLLWERT

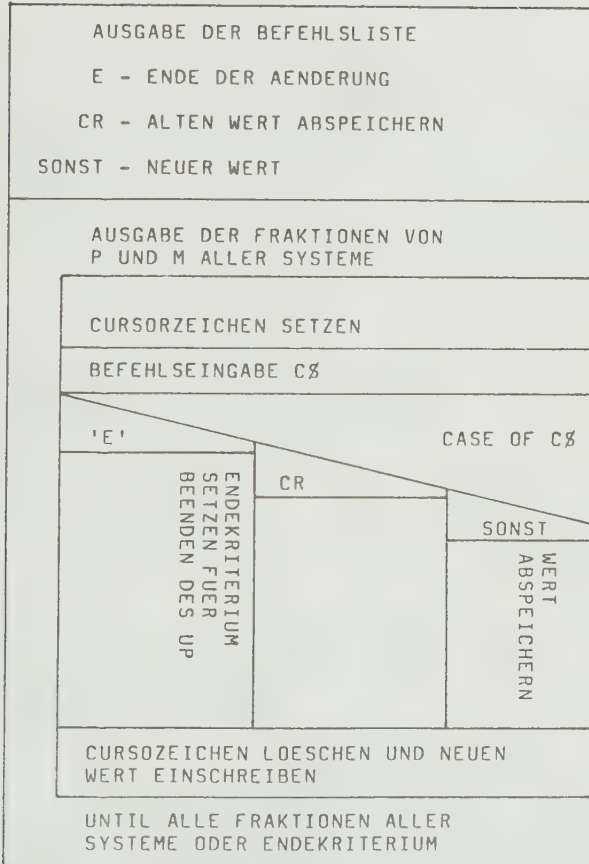
|                                                                 |                     |                              |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|
| BEFEHLSLISTE AUSGEBEN                                           |                     |                              |
| E- BEENDEN DIESES UP                                            |                     |                              |
| CR- ALTEN WERT UEBERNEHMEN                                      |                     |                              |
| SONST- WIRD ALS NEUER WERT ABGESPEICHERT                        |                     |                              |
| AUSGABE EINES SOLLWERTES MIT KORRESPONDIERENDEN $\lambda$ -WERT |                     |                              |
| BEFEHLSEINGABE IN C $\lambda$                                   |                     |                              |
| 'E'<br>SETZEN DES ENDEKRITERIUMS                                | CASE OF C $\lambda$ |                              |
|                                                                 | 'CR'                | SONST                        |
|                                                                 |                     | WERT IN SPEICHER UEBERNEHMEN |
| UNTIL ALLE 26 SOLLWERTE ODER ENDEKRITERIUM                      |                     |                              |

Programm III: dieses Programm wurde benutzt, um die theoretischen Differenzspektren im interaktiven Betrieb nach Dunkelzeit zu berechnen. Dazu wurde für die zweite Adaptationswellenlänge die Fraktionen der Pigmentstadien vorgegeben. Ansonsten war dieses Programm identisch zu Programm I, es werden daher nur die abweichenden Programmteile angegeben.

### 3.1. BEFEHLSINTERPRETER



### 3.1.1. UP FRAKTION

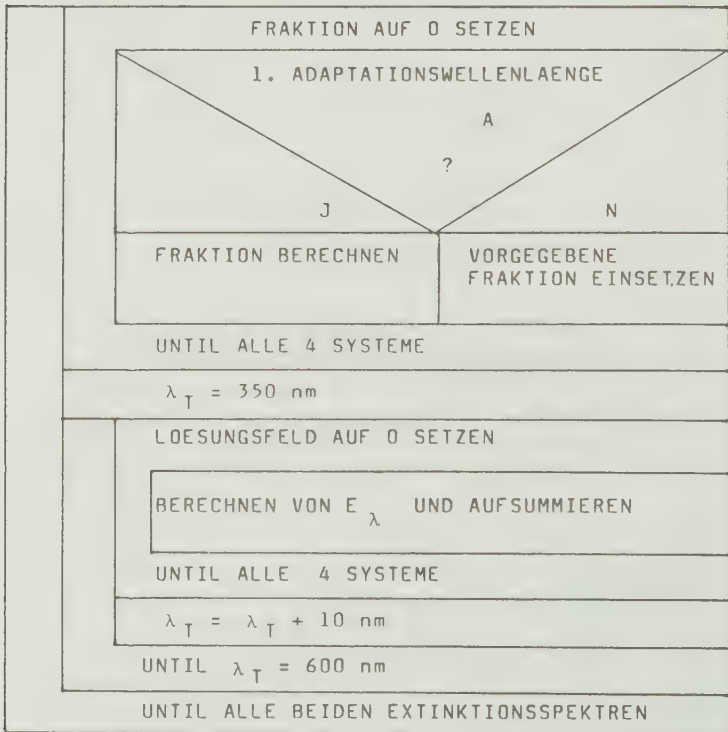


### 3.1.2. UP RECHNEN III

|                                               |
|-----------------------------------------------|
| EXTINKTION FUER                               |
| $\lambda_A, \lambda_{AD}$ BERECHNEN           |
| DIFFERENZ BILDEN                              |
| $E_{DIFF} = E_{\lambda_A} - E_{\lambda_{AD}}$ |
| NORMIEREN                                     |
| SPRUNG INS UP                                 |
| 'PLOTTEN'                                     |

siehe  
1.2.1.2  
siehe  
1.2.1.2.

#### 3.1.2.1. EXTINKTION FUER $\lambda_A, \lambda_{AD}$ BERECHNEN



## 9. Literatur

- Abrahamson, E.W., Wiesenfeld, J.R. (1972): The structure, spectra and reactivity of visual pigments. in: Dartnall H. J. (ed.) Handbook of Sensory Physiology VII/1, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 69-121
- Autrum, H., Zwehl V. v. (1964): Spektrale Empfindlichkeit einzelner Sehzellen des Bienenauges. Z. vergl. Physiol. 48, 357-384
- Autrum, H., Kolb, G. (1968): Spektrale Empfindlichkeit einzelner Sehzellen der Aeschniden. Z. vergl. Physiol. 60, 450-477
- Ball, S., Collins, F.D., Dalvi, P.D., Morton, R.A. (1949): Studies in Vitamin A, 11. Reactions of retinene with amino compounds. Biochem. J. 45, 304-307
- Barnes, S.N., Goldsmith, I.H. (1973). Dark adaptations of the lobster. Biol. Bull. 145, 423-424
- Barnes, S.N., Goldsmith, I.H. (1977): Dark adaptation, sensitivity and rhodopsin level in the eye of the lobster Homarus. J. comp. Physiol. 120, 143-159
- Bennett, R, et al. (1967): Spectral sensitivity of single retinula cells of the locust. Z. vergl. Physiol. 55, 195-206
- Bennett, R., Ruck P. (1970): Spectral sensitivities of dark and light adapted Notonecta compound eyes. J. Insect Physiol. 16, 83-80

- Berman, E.R., Horowitz, J., Segal, N., Fischer, S., Feeney-Burns, L. (1980): Enzymatic esterification of Vit A in the pigment epithelium of bovine retina. *Biochim. et Biophys. Acta* 630, 36-46
- Bernard, D.B. (1979): Red- absorbing visual pigment of butterflies. *Science* 203, 1125-1127
- Bernard, D.B. (1983): Bleaching of rhabdomes in eyes of intact butterflies. *Science* 219, 69-71
- Bernard, G.D. (1983): Dark-processes following photo-conversion of butterfly rhodopsins. *Biophys. Struct. Mech.* 9/4, 277-286
- Bisswanger, H. (1979): *Theorie und Methode der Enzym-kinetik*, Verlag Chemie, Weinheim
- Blest, A.D (1980): Photoreceptor membrane turnover in arthropods: comparative studies of breakdown processes and their implications. In: Williams, Th.P, Baker, B.N. (eds) *the Effects of Constant Light on Visual Processes*, Plenum Publishing Cooperation
- Bok, D., Heller, J. (1980): Autoradiographic localization of serum retin ol- binding protein receptors in the pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. and Vis. Sci.* 19/12
- Bowmaker, J.K. (1980): Color vision in birds and the role of oil droplets. *Trends in Neuroscience*, 9, 196-199

- Bridges, C.D.B. (1976): 11-cis-Vit A in dark-adapted rod outer segments is a probable source of prosthetic groups for rhodopsin biosynthesis. *Nature* 256, 247-248
- Bridges, C.D.B. (1976): Vit A and the role of the pigment epithelium during bleaching and regeneration of rhodopsin in the frog eye. *Exp. Eye Res.* 22, 435-455
- Brown, P.K., White, R.H. (1972): Rhodopsin of the mosquito. *J. Gen. Physiol.* 59, 401-414
- Bruckmoser, P. (1968): Die spektrale Empfindlichkeit einzelner Sehzellen des Rückenschwimmers *Notopecta glauca* L. (Heteroptera). *Z. vergl. Physiol.* 59, 187-204
- Bruno, M.S., Barnes, S.N., Goldsmith, T.H. (1977): The visual pigment and visual cycle of the lobster *Homarus*. *J. Comp. Physiology* 120, 123-142
- Chen, C.C., Heller, J. (1977): Uptake of retinol and retinoic acid from serum retinol-binding-protein by retinal pigment epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 252, 5216-5221
- Dartnall, H.J.A. (1953): The interpretation of spectral sensitivity curves. *Brit. med. Bull.* 9/1, 24-30
- Delmelle, M. (1979): Possible implication of photo-oxidation reaction in retinal photo-damage. *Photochem. Photobiol.* 29, 713-716

- Dippold, K. (1981): Temperaturabhängigkeit des Elektroantennogramms verschiedener Schmetterlingsarten. Staatsexamensarbeit aus dem Inst. für Zool. und dem Inst. für Org. Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg
- Donner, K.O., Reuter, T. (1967): Dark adaptation processes in the rhodopsin rods of the frog's retina. *Vision Res.* 7, 17-41
- Dowling, J.E. (1960): Chemistry of visual adaptation in the rat. *Nature* 188, 114-118
- Ebrey, Th., Honig, B. (1977): New wavelenght dependent visual pigment nomograms. *Vision Res.* 17, 147-151
- Eguchi, E., Watanabe, K., Hariyama, T., Yamamoto, K. (1982): A comparison of electrophysiological determined spectral responses in 35 species of lepidoptera. *J. Physiol.* 28/8, 675-682
- Franceschini, N., Hardie, R., Ribi, W.A., Kirschfeld, K. (1981): Sexual dimorphism in a photoreceptor. *Nature* 291/5812, 241-244
- Frisch, K. v. (1914): Der Farbensinn und Formensinn der Biene. *Zool. J. Physiol.* 37, 1-238
- Futterman, S., Rollins, M.H. (1973): The catalytic isomerization of all-trans-retinal to 9-cis-retinal and 13-cis-retinal. *The J. of Biol. Chem.* 248, 7773-7779

- Gareth Morris, J. (1976): *Physikalische Chemie für Biologen*. Verlag Chemie, Weinheim-New York
- Goldman, L., Barnes, S.N., Goldsmith, T.H. (1975): Microspectrophotometry of rhodopsin and meta-rhodopsin in the moth *Galleria*. *J. gen. Physiol.* 66, 383-404
- Goldsmith, T.H. (1972): The natural history of invertebrate visual pigments. In: Dartnall, H.J.A. (Ed) *Handbook of Sensory Physiology*, Vol. VII/1, Springer Berlin-Heidelberg-New York, 685-719
- Gribakin, F.G. (1981): Automatic spectrosensitometry of photoreceptors in *Lethrus* (Coleoptera, Scarabaeidae). *J. comp. Physiol.* 142, 95-102
- Haeckel, U. (1978): Reflexionsmessungen am Superpositionsaugen der Florfliege *Chrysopa carnea* Steph. zur Charakterisierung eines Sehpigments. Staats-examensarbeit aus dem II. Zoologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg
- Hamann, B., Langer H. (1980): Sehfärbstoffe im Auge des Wasserläufers *Gerris lacustris* L.. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.* 73, 337
- Hamdorf, K., Höglund, G., Langer, H. (1971): Mikrophotometrische Untersuchungen an der Retinula des Nachtschmetterlings *Deilephila elpenor*. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.* 65, 276-281
- Hamdorf, K., Paulsen, R., Schwemer, J. (1973): Photoregeneration and sensitivity control of photoreceptors of invertebrates. In: Langer, H. (ed) *Biochem. and Physiol. of Visual Pigments*, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 155-166

- Hamdorf, K., Gogola, M. (1973): Photoregeneration und Bereicheinstellung bei UV- Rezeptoren. J. comp. Physiol. 86, 231-245
- Hamdorf, K., Schwemer, J. (1975): Photoregeneration and the adaptation process in insect photoreceptores. In: Snyder, A.W., Menzel, R. (Eds.), Photoreceptor Optics, Springer Berlin-Heidelberg -New York, 263-289
- Hamdorf, K. (1979): The physiology of invertebrate visual pigments. In: Autrum, H. (ED.) Invertebrate photoreceptores, Handbook of Sensory Physiology Vol. VII/6A, Springer Berlin-Heidelberg-New York, 194-224
- Hara T., Hara, R. (1972): Cephalopod Retinochrome. In: Dartnall, H.J. (Ed) Handbook of Sensory Physiology VII/1, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 720-746
- Hara, T., Hara, R. (1973): Isomerisation of retinal catalysed by retinochrome in the light. Nature 242, 39-43
- Hara, T., Hara, R. (1976): Distribution of rhodopsin and retinochrome in the squid retina. J. gen. Physiol. 67, 791-805
- Hara, R., Hara, T. (1981): Photochemistry of retinochrome. Photochem. Photobiol. 33, 883-891

- Hara, T., Hara, R. (1982): Cephalopod retinochrome.  
In: Packer L. (ed.), Methods in Enzymology 81,  
Academic Press New York - London, 190-197
- Harris, W.A., Stark, W., Walker, J.A. (1976): Genetic  
dissection of the photoreceptor system of the  
compound eye of *Drosophila melanogaster*.  
J. Physiol. (London) 256, 415-439
- Hasselmann, E.M. (1962): Über die relative spektrale  
Empfindlichkeit von Käfer- und Schmetterlings-  
Augen bei versch. Helligkeiten. Zool. J.  
Physiol. 69, 537-576
- Helversen, O. v. (1972): Zur spektralen Unterschieds-  
empfindlichkeit der Honigbiene. J. comp.  
Physiol. 80, 439-472
- Höglund, G., Struwe, G. (1970): Pigmentmigration and  
spectral sensitivity in the compound eye of a  
moth. Z. vergl. Physiol. 67, 229-237
- Höglund, G., Hamdorf, K., Langer, H., Paulsen, R.,  
Schwemer, J. (1973). The photopigments in an  
insect retina. In: Biochem. and Physiol. of  
Visual Pigments, Langer, H. (ed.) Berlin-  
Heidelberg-New York
- Höglund, G., Hamdorf, K., Rosner, G. (1973): Trichro-  
matic visual system in an insect and its sensi-  
tivity control by blue light. J. comp. Physiol.  
86, 265-279
- Hong, K., Knudsen, P.J., Hubbel, W.L. (1982): Purifi-  
cation of rhodopsin on hydroxyapatite columns,  
detergent exchange, and recombination with phos-  
pholipids. In: Packèr, L. (ed.), Methods in En-  
zymology 81/1, Academic Press New York-London,  
144-149

- Horstmann, G. (1973): Die Pigmentgranula und ihre Entstehung in den Ommatidien verschiedener Augenfarbgenotypen der Mehlmotte *Ephestia* k.. Köln Univ. Math.-Nat. Fak. Diss.
- Horwitz, J., Heller, J. (1974): Properties of the chromophore binding site of retinol binding protein from human plasma. *J. Biol. Chem.* 249, 4712-4719
- Horridge, G.A. (1969): Unit studies on the retina of the dragonfly. *Z. vergl. Physiol.* 62, 1-37
- Hubbard, R. (1956): Retinene isomerase. *J. Physiol.* 39/6, 935-963
- Hubbard, R., St. George, R.C.C. (1958): The rhodopsin system of the squid. *J. Physiol.* 41, 501-528
- Jungermann, K., Möhler, H. (1980): *Biochemie*, Springer Berlin-Heidelberg-New York
- Kirschfeld, K., Franceschini, N., Minke, G. (1977): Evidence for a sensitizing pigment in fly photoreceptors. *Nature* 269, 386-390
- Kirschfeld, K., Feiler, F., Minke, G. (1978): The kinetics of formation of metarhodopsin in intact photoreceptors of the fly. *Z. Naturforsch.* 33c, 1009-1010
- Kirschfeld, K. (1979): The function of photostable pigments in the fly photoreceptors. *Biophys. Struct. Mechanism* 5, 117-128

- Kirschfeld, K. (1982): Carotinoid pigments: their possible role in protecting against photooxidation in eyes and photoreceptor cells. Proc. R. Soc. Lond. B 216, 71-85
- Kühn, A, Egelhaaf, A. (1959): Der rote Augenfarbstoff von *Ephestia* und *Ptychopoda* - ein Pterinpigment. Zeitschrift f. Naturforschung 14b, 654-659
- Kühne, W. (1877): Untersuch. aus dem Physiol. Inst. der Univ. Heidelberg 1, 15-26
- Kunze, P. (1979): Apposition and superposition eyes. In: Autrum, H. (ed.) Comparative physiology and evolution of vision in invertebrates. Handbook of Sensory Physiology, Vol. VII/6A, Springer Berlin-Heidelberg-New York, 441-502
- Kotissek, K. (1978): Reflexionsspektroskopische und elektrophysiologische Untersuchungen am Superpositionsauge der Mehlmotte *Ephestia kuehniella*, Zeller. Diplomarbeit aus dem Institut für Zoologie II der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
- Kotissek, K. (1983): Die Empfindlichkeit des Auges der Mehlmotte *Ephestia kuehniella* Z. in Abhängigkeit von den Sehpigmenten, dem Adaptionszustand und der Temperatur. Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg
- Lai, Y.L., Wiggert, B., Liu, Y.P., Chader, G.J. (1982): Interphotoreceptor retinol binding proteins: possible transport vehicles between compartments of the retina. Nature 298/5877, 848-849

- Langer, H., Hamann, B., Meinecke, C.C. (1979): Tetrachromatic visual system in the moth *Spodoptera exempta* (Insecta: Noctuidae). *J. comp. Physiol.* 129, 235-239
- Laughlin, S.B. (1975): Receptor function in the apposition eye: an electrophysiological approach. In: Photoreceptor Optics, Snyder, A.W., Menzel, R. (eds.), Springer Berlin-Heidelberg-New York, 479-498
- Liou, G.I., Bridges, C.D.B., Fong, S.-L., Alvarez, R.A., Gonzales-Fernandez f. (1982): Vitamin A transport between retina and pigment epithelium - an interstitialprotein carrying endogenous retinol (interstitial retinol-binding protein). *Vision Res.* 22, 1457-1467
- Lochner, M. (1982): Reflexions- und Fluoreszenzuntersuchungen am Superpositionsauge von *Ephestia kuehniella* Z. (Mutante wa). Staatsexamensarbeit aus dem Institut für Zoologie, Lehrstuhl II der Universität Erlangen-Nürnberg
- Maraini, G., Ottonelle, S., Gozzoli, F., Merli, A. (1977): Identification of a membrane protein binding the retinol in retinal pigment epithelium. *Nature* 265, 68-69
- Marak, E.G., Gallik, G.J., Cornesky, R.A. (1970): Photopigments of *Musca*. *Ophthalmol. Res.* 1, 65
- Menzel, R., Blakers, M. (1976): Colour receptors in the bee eye: morphology and spectral sensitivity. *J. comp. Physiol.* 108, 11-33

- Menzel, R. (1979): Comparative physiology and evolution of vision in invertebrates. In: Autrum, H. (ed) Handbook of Sensory Physiology VII/6A; Springer Berlin-Heidelberg-New York, 505-580
- Minke, B., Kirschfeld, K. (1979): The contribution of a sensitizing pigment to the photosensitivity spectra of fly rhodopsin and metarhodopsin. J. gen. Physiol. 73, 517-540
- Mote, M.I., Goldsmith, T.H. (1971): Compound eyes: Localization of two receptors in the same ommatidium. Science 171, 1245-1255
- Muntz, W.R.A. (1972): Inert absorbing and reflecting pigments. In: Dartnall, H.J.A. (ed.) Photochemistry of Vision Handbook of Sensory Physiol. VII/1, Springer Berlin-Heidelberg-New York, 530-565
- Muri (1978): Neuroscience Letter, Suppl. 1, 410-
- Nashima, K., Mitsudo, M., Kito, Y. (1978): Molecular weight and structural studies on cephalopod retinochrome. Biochem. Biophys. Acta 536, 78-87
- Ottonello, S., Marani, G. (1981): Retinol uptake by isolated retinal pigment epithelium plasma membranes. Exp. Eye Res. 32, 69-75
- Paulsen, R., Schwemer, J. (1973): Proteins of invertebrate photoreceptor membranes. Europ. Biochem. 40, 577-583

Paulsen, R., Schwemer, J. (1973): Proteins of invertebrate photoreceptor membranes. *Europ. Biochem.* 40, 577-583

Paulsen, R., Schwemer, J. (1979): Vit. A deficiency reduces the concentration of visual pigment protein within blowfly photoreceptor membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 557, 385-390

Pepe, I.M., Cugnoli, C. (1980): Isolation and characterisation of a watersoluble photopigment from honeybee compound eye. *Vision Res.* 20, 97-102

Pepe, I.M., Schwemer, J., Paulsen, R. (1982): Characteristics of retinal-binding-proteins from honeybee retina. *Vision Res.* 22, 775-781

Peskin, J.C. (1942): The regeneration of the visual purple in the living animal. *J. gen. Physiol.* 28, 27-47

Pigler, J. (1979): Photoisomerisation und Dunkelregeneration eines Sehpigments. Reflexionsspektroskopische Untersuchungen am Superpositionsaugen der Mehlmotte *Ephesia kuehniella* Z. (Mutante wa). Diplomarbeit aus dem Institut für Zoologie, Lehrstuhl II der Universität Erlangen-Nürnberg

Plante, E.O., Rabinovitch, B. (1972): Enzymes in the regeneration of rhodopsin. *Biochem. Biophys. Commun.* 46/2, 725-730

- Ribi, W.A. (1978): Colour receptors in the eye of the digger wasp *Sphex cognatus* S.: Evaluation by selective adaptation. *Cell. Tiss. Res.* 195, 471-483
- Ruck, P.R. (1965): The components os the visual of a dragonfly. *J. gen. Physiol.* 49, 289-307
- Sackmann, E. (1982): Physikalische Grundlagen der molekularen Organisation und Dynamik von Membranen. In: Hoppe et al. (eds.) *Biophysik*, Springer Berlin-Heidelberg-New York.
- Schlecht, P., Hamdorf, K., Langer, H. (1978): The arrangement of the colour receptors in a fused rhabdom of an insect. *J. Physiol.* 123, 239-243
- Schlecht, P. (1979): Colour discrimination in dim light: an analysis of photoreceptor arrangement in the moth *Deilephila*. *J. comp. Physiol.* 129, 257-267
- Schwemer, J. (1969): Der Sehfarbstoff von *Eledone Moschata* und seine Umsetzung in der lebenden Netzhaut. *Z. vergl. Physiol.* 62, 121-152
- Schwemer, J., Gogola, M., Hamdorf, K. (1971): Der UV-Sehfarbstoff der Insekten: Photochemie in vitro und in vivo. *Z. vergl. Physiol.* 75, 174-188
- Schwemer, J., Paulsen, R. (1973): Three visual pigments in *Deilephila elpenor* (Lepidoptera Sphingidae) *J. comp. Physiol.* 86, 215-229

- Schwemer, J., (1979): Habilitationsschrift, Ruhr Univ. Bochum
- Schwemer, J., Langer, H. (1982): Insect visual pigments. In: Packer, L. (ed) Methods in Enzymology 81, Academic Press New York-London, 182-190
- Schwemer, J. (1983): Pathways of visual pigment regeneration in fly photoreceptor cells. Biophys. Struct. Mech. 9, 287-298
- Seitz, G. (1981): Reflexions- und Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zur Charakterisierung von Sehpigmenten im Superpositionsauge von *Ephesia kuehniella* Z. (unveröffentlicht) Universität Erlangen-Nürnberg, Institut für Zoologie, Lehrstuhl II
- Seitz, G. (1982): Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften eines bistabilen Sehpigmentensystems: Mikroskopphotometrische Untersuchungen am Superpositionsauge von *Ephesia kuehniella* Z. (Mutante wa) (unveröffentlicht) Universität Erlangen-Nürnberg, Institut für Zoologie, Lehrstuhl II
- Seki, T., Hara, R., Hara, T. (1980): Reconstitution of squid rhodopsin in rhabdomal membranes. Photochem. Photobiol. 32, 469-479
- Shichi, H. (1971): Biochemistry of visual pigments. II Phospholipid requirement and opsin conformation for regeneration of bovine rhodopsin. The J. of Biol. Chem. 246/20

- Shichi, H., Somers, R.L. (1982): Photoregeneration.  
In: Packer L. (ed.) Methods in Enzymology 81,  
459-462
- Sperling, L. Hubbard, R. (1975): Squid retinochrome.  
J. gen. Physiol. 65, 235-251
- Stavenga, D.G., Zantema, A., Kuiper, J.W. (1973):  
Rhodopsin processes and the function of the  
pupil mechanism in flies. In: Langer, H. (ed.)  
Biochem. and Physiol. of Visual Pigments,  
Springer Berlin-Heidelberg-New York, 175-180
- Stavenga, D.G. (1975): Dark regeneration of inverte-  
brate visual pigments. In: Snyder, A.W.,  
Menzel, R. (eds.) Photoreceptor Optics, Springer  
Berlin-Heidelberg-New York 290-295
- Stavenga, D.G. (1976): Fly visual pigments. Diffe-  
rence in visual pigments of blowfly and drone-  
fly peripheral retinula cells. J. comp. Physiol.  
111, 137-152
- Stieve, H. (1960): Über die Temperaturabhängigkeit  
des Belichtungspotential von Eupagurus. Verh.  
Dtsch. Zool. Ges. 54
- Struwe, G. (1972): Spectral sensitivity of single  
photoreceptors in the compound eye of a tropical  
butterfly. J. comp. Physiol. 79, 197-201
- Wald, G., Brown, P. (1956): Synthesis and bleaching  
of rhodopsin. Nature 177, 174-176

Wald, G., Brown, P.K. (1951): The role of sulfhydryl-groups in the bleaching and synthesis of rhodopsin. J. gen. Physiol. 35, 797-809

Welsch, B (1977): Ultrastruktur und funktionelle Morphologie der Augen des Nachtfalters *Deilephila elpenor* (Lepidoptera, Sphingidae). Cytobiologie 14, 378-400

Weyrauther, E. (1982): Mechanismus der Schirmpigmentgranulaverschiebung im Superpositionsauge von *Epehstia kuehniella* Z. Dissertation der Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universität Erlangen-Nürnberg

Wyninger, R. (1974): Insektenzucht. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

Young, R.W. (1975): Visual cells and the concept of renewal. Investigations in Ophthalmology Visual Sciences, 15, 700-725

Zewi, M.: On the regeneration of visual purple. Acta soc. Sci. Fenn. N.S.B. 2/4, 1-56



## 10. Danksagungen

Herrn Prof. Dr. G. Seitz danke ich für die Ermöglichung der Durchführung dieser Arbeit am Institut für Zoologie, Lehrstuhl II, die Bereitstellung der benötigten Hilfsmittel und für wertvolle Diskussionen und Hinweise.

Frau M. v. Künsberg danke ich für die stets freundliche Unterstützung bei Organisationsfragen, sowie für die exakte Ausführung der grafischen und fotografischen Arbeiten.

Meinem Kollegen Herrn Dipl. Biol. Dr. K. Kotissek gilt mein Dank für die Bereitstellung der Geräte und Beratung zur Durchführung der ERG - Versuche. Ihm und Herrn Dipl. Biol. Dr. E. Weyrauther danke ich zudem für ihre stete Diskussionsbereitschaft.

Herrn cand. Dipl. Ing. Univ. H. Pigler verdanke ich die Bereitstellung des Computers, Beratung und Unterstützung bei der Einarbeitung in die Programmiersprachen Simula und Basic, sowie wertvolle Tips zur Konzeption der Programme.

Herrn Dipl. Ing. FH G. Lochner konstruierte und baute für mich den vielfach verstellbaren Vollkunststoff- Objektträgerereinsatz für den Universal- Drehtisch. Im verdanke ich damit entscheidende Reduzierung der Kühl- und Kondensationsprobleme.

Nicht zuletzt möchte ich meinem Mann Dank aussprechen für sein humorvolles Verständnis für meine Arbeit.

## 11. Lebenslauf

Name: Jutta Wojciechowski, geb. Pigler  
Geburtsdatum: 21. August 1954  
Geburtsort: Erlangen  
Eltern: Dr. techn. Franz Pigler, Diplom  
Ingenieur und Hertha Pigler, geb  
Schleifer, Lehrerin  
Familienstand: verheiratet seit dem 17.12.1982  
Nationalität: Österreich

### Schulbildung:

13. 4.1961 Einschulung in die "Katholische  
Volksschule Waisenhausstraße",  
Rheydt/Nordrhein - Westfalen  
29. 9.1963 Schulwechsel in die "Katholische  
Volksschule Rheydt- Mülfort"  
22. 4.1965 - 9.10.1965: Besuch des "Neu-  
sprachlichen Mädchengymnasium  
Rheydt"  
10.10.1965 Schulwechsel in die "Herderschule  
Frankfurt am Main"  
7. 6.1973 Schulabschluß mit der allgemeinen  
Hochschulreife an der "Herder-  
schule Frankfurt/Main"

### Studium

11.10.1973 Immatrikulation für Biologie /  
Diplom an der Universität  
Erlangen-Nürnberg  
2. 7.1979 Studienabschluß als Diplom  
Biologin  
SS 1979 - SS 1983 Aufbaustudium zur Er-  
langung des Doktorgrades

Berufstätigkeit

Während des Studiums Tätigkeit  
als studentische Hilfskraft im  
WS 1977/78, SS 1978 und WS 1978/79  
am Institut für Zoologie II der  
Universität Erlangen-Nürnberg

16. 7. 1979 - 15.1.1983 als wissenschaftliche  
Mitarbeiterin am Institut für Zoo-  
logie. Lehrstuhl II der Universität  
Erlangen-Nürnberg

ab 1.10.1983 angestellt bei Fa. Röhm Pharma,  
Darmstadt als Pharmareferentin im  
wissenschaftlichen Außendienst.





